

# 56. HRVATSKI I 16. MEĐUNARODNI SIMPOZIJ AGRONOMA: zbornik radova

---

Djurkin Kušec, Ivona; Kušec, Goran; Gvozdanović, Kristina; Margeta, Vladimir; ...; Rebečić, Andrijana; Kristić, M.; Lisjek, Miroslav; ...Štefanić, Edita; Vrandečić, Karolina; ...

**Edited book / Urednička knjiga**

*Publication status / Verzija rada:* **Published version / Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

*Publication year / Godina izdavanja:* **2021**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:444741>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-29**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)





Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

**Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek**

56. HRVATSKI I 56<sup>th</sup> CROATIAN AND  
16. MEĐUNARODNI 16<sup>th</sup> INTERNATIONAL  
SIMPOZIJ SYMPOSIUM ON  
AGRONOMA AGRICULTURE

5. – 10. rujna 2021. | Vodice | Hrvatska

September 5 – 10, 2021 | Vodice | Croatia

**ZBORNİK RADOVA**

**PROCEEDINGS**

Vodice, OLYMPIA Sky

Izdavač | Published by **Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**  
**Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**  
**Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**  
**University Josip Juraj Strossmayer in Osijek**

Za izdavača | Publisher **Krunoslav Zmaić**

Glavni urednici | Editors in Chief **Vlatka Rozman**  
**Zvonko Antunović**

Oblikovanje | Design by **Ras Lužaić**

Tisak | Print by **VIN Grafika**

ISSN **2459-5543**

## **Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**

### **Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu**

Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Mostaru, Bosna i Hercegovina

Akademija poljoprivrednih znanosti

Association for European Life Science Universities (ICA)

Balkan Environmental Association (B.EN.A)

Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani, Slovenija

European Hygienic Engineering&Design Group (EHEDG), Germany

European Society of Agricultural Engineers (EurAgEng)

Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Univerza v Mariboru, Slovenija

Hrvatska agronomska komora

Hrvatsko agronomsko društvo

Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Sveučilište u Slavonskom Brodu

Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

### **pod pokroviteljstvom**

Ministarstva znanosti i obrazovanja Republike Hrvatske

Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske

Ministarstva gospodarstva i održivog razvoja Republike Hrvatske

### **u suradnji s**

Bc Institutom za oplemenjivanje i proizvodnju bilja, Zagreb

Brodsko-posavskom županijom

Društvom agronoma Osijek

Gradom Osijekom

Gradom Požegom

Gradom Slavonskim Brodom

Gradom Vinkovcima

Gradom Vodicama

Hrvatskim lovačkim savezom, Zagreb

Hrvatskom agencijom za poljoprivredu i hranu, Osijek

Hrvatskom gospodarskom komorom, Zagreb

Hrvatskom poljoprivrednom agencijom, Križevci

Institutom za jadranske kulture i melioraciju krša, Split

Institutom za poljoprivredu i turizam, Poreč

Osječko-baranjskom županijom

Poljoprivrednim institutom Osijek

Sveučilištem u Splitu

Turističkom zajednicom Osječko-baranjske županije

Veleučilištem u Požegi

Visokim gospodarskim učilištem u Križevcima

Vukovarsko-srijemskom županijom

### **organiziraju**

## **56. hrvatski i 16. međunarodni simpozij agronoma**

**5. do 10. rujna 2021., Vodice, Hrvatska**





**Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
and**

**Faculty of Agriculture University of Zagreb**

Academy of Agricultural Sciences

Association for European Life Science Universities (ICA)

Balkan Environmental Association (B.EN.A)

Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Slovenia

Croatian Chamber of Agronomists

Croatian Society of Agronomy

European Hygienic Engineering&Design Group (EHEDG), Germany

European Society of Agricultural Engineers (EurAgEng)

Faculty of Agriculture and Food Technology, University of Mostar, Bosnia and Herzegovina

Faculty of Agriculture and Life Sciences, University of Maribor, Slovenia

Faculty of Food Technology Osijek, Croatia

Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

University of Slavonski Brod

**under the auspices of the**

Ministry of Science and Education of the Republic of Croatia

Ministry of Agriculture of the Republic of Croatia

Ministry of Economy and Sustainable Development of the Republic of Croatia

**in collaboration with**

Agricultural Institute Osijek

Bc Institute for Breeding and Production of Field Crops, Zagreb

Brod-Posavina County

City of Osijek

City of Požega

City of Slavonski Brod

City of Vinkovci

City of Vodice

College of Agriculture in Križevci

College of Slavonski Brod

Croatian Agency for Agriculture and Food, Osijek

Croatian Agricultural Agency, Križevci

Croatian Chamber of Economy

Croatian Hunting Federation

Institute for Adriatic Crops and Karsts Reclamation, Split

Institute of Agriculture and Tourism, Poreč

Osijek-Baranya County

Polytechnic in Požega

Society of Agronomy, Osijek

University of Split

Vukovar-Srijem County

**organize**

**56<sup>th</sup> Croatian & 16<sup>th</sup> International Symposium on Agriculture**

**September 5 - 10, 2021, Vodice, Croatia**



## **Organizacijski odbor Organizing Committee**

### **Predsjednik | Chairman**

Krunoslav Zmaić, Croatia

### **Članovi | Members**

Zoran Grgić, Croatia  
Ivan Ostojić, Bosnia and Herzegovina  
Franjo Tomić, Croatia  
Arthur Mol, Netherlands  
Mariana Golumbeanu, Romania  
Nataša Poklar Ulrih, Slovenia  
Ludvig Josefsberg, Germany  
Peter Groot Koerkamp, Netherlands  
Branko Kramberger, Slovenia  
Josip Haramija, Croatia  
Jurislav Babić, Croatia  
Vlado Guberac, Croatia  
Ivan Samardžić, Croatia  
Nenad Turk, Croatia  
Radovan Fuch, Croatia  
Marija Vučković, Croatia  
Ivica Ikić, Croatia  
Danijel Marušić, Croatia  
Romeo Jukić, Croatia  
Ivan Radić, Croatia  
Željko Glavić, Croatia  
Mirko Duspara, Croatia  
Ivan Bosančić, Croatia  
Ante Cukrov, Croatia  
Đuro Dečak, Croatia  
Darja Sokolić, Croatia  
Luka Burilović, Croatia  
Katja Žanić, Croatia  
Dean Ban, Croatia  
Ivan Anušić, Croatia  
Zvonimir Zdunić, Croatia  
Dragan Ljutić, Croatia  
Ivana Jurić, Croatia  
Borislav Miličević, Croatia  
Marijana Ivanek-Martinčić, Croatia  
Damir Dekanić, Croatia

## **Znanstveni odbor Scientific Committee**

### **Predsjednici | Chairmans**

Vlatka Rozman, Croatia

Zvonko Antunović, Croatia

### **Članovi | Members**

Nikola Bilandžija, Croatia  
Ivica Bošković, Croatia  
Anita Bošnjak Mihovilović, Croatia  
Mato Drenjančević, Croatia  
Jelena Gadže, Croatia  
Goran Jukić, Croatia  
Željko Jukić, Croatia  
Nikolina Kelava Ugarković, Croatia  
Dario Iljkić, Croatia  
Antonis K. Kokkinakis, Greece  
Jelena Kristić, Croatia  
Zvezdana Marković, Croatia  
Ornella Mikuš, Croatia  
Josip Novoselec, Croatia  
Aleksandra Perčin, Croatia  
Sonja Petrović, Croatia  
Maria Popa, Romania  
Sanja Radman, Croatia  
Irena Rapčan, Croatia  
Lidija Svečnjak, Croatia  
Tomislav Vinković, Croatia  
Vladimir Zebec, Croatia

### **Tajnik | Secretary**

Tihomir Florijančić, Croatia

# 00

## Plenarna izlaganja

### Plenary lectures

Ivona Djurkin Kušec, Goran Kušec, Kristina Gvozdanović, Vladimir Margeta, Luca Fontanesi, Cristina Óvilo

<b>Genomic characterisation of European local pig breeds – what has the old breeds thought us .....</b>	<b>1</b>
<b>Genomska karakterizacija Europskih lokalnih pasmina svinja – što smo naučili od starih pasmina.....</b>	<b>14</b>

Smiljana Goreta Ban, Josipa Perković, Iva Bažon, Nikola Major, Mario Franić, Igor Lukić, Danijela Poljuha, Zlatko Šatović, Dean Ban

<b>Morphological, biochemical and molecular diversity of <i>Allium</i> species cultivated in Croatia.....</b>	<b>15</b>
<b>Morfološka, biokemijska i molekularna raznolikost vrsta roda <i>Allium</i> u Hrvatskoj .....</b>	<b>24</b>

Sonja Grljušić, Dario Novoselović

<b>The challenge of increasing wheat yield and nitrogen use efficiency .....</b>	<b>25</b>
<b>Izazov u povećanju uroda pšenice i učinkovitosti usvajanja dušika.....</b>	<b>31</b>

Danijel Karolyi, Goran Kušec

<b>Prednosti i izazovi u proizvodnji svinjskog mesa od nekastriranih muških svinja i imunokastrata .....</b>	<b>32</b>
<b>Advantages and challenges in the pork production with entire males and immunocastrated pigs .....</b>	<b>43</b>

Andrijana Rebekić, Sanja Grubišić, Marija Kristić, Katarina Mišković Špoljarić, Miroslav Lisjak

<b>Nutritional value of wheatgrass juice – estimation on the basis of mineral concentrations .....</b>	<b>44</b>
<b>Nutritivna vrijednost soka od pšenične trave – procjena na temelju koncentracije minerala .....</b>	<b>51</b>

Goran Zdunić, Katarina Lukšić, Ana Mucalo, Irena Budić-Leto, Katarina Hančević, Tomislav Radić, Lukrecija Butorac, Maja Žulj Mihaljević, Edi Maletić

<b>Genetski izvori divlje loze (<i>Vitis vinifera</i> L. subsp. <i>sylvestris</i>) u Hrvatskoj.....</b>	<b>52</b>
<b>Genetic resources of wild grapevine (<i>Vitis vinifera</i> L. subsp. <i>sylvestris</i>) in Croatia .....</b>	<b>60</b>

# 01

## Agroekologija, ekološka poljoprivreda i zaštita okoliša Agroecology, Organic Agriculture and Environment Protection

Slavica Antunović, Ozana Živković, Ljiljana Božić-Ostojić, Edita Štefanić,  
Krunoslav Miroslavić, Teuta Benković-Lačić

<b>Ocjena stanja ekološke poljoprivrede u Republici Hrvatskoj prema mišljenju poljoprivrednika .....</b>	<b>63</b>
<b>Assessment of the state of organic agriculture in the Republic of Croatia according to farmers opinion.....</b>	<b>67</b>

Milena Đorđević, Tijana Stojanović, Vojislava Bursić, Gorica Vuković, Nikola Puvača,  
Aleksandra Petrović, Bojan Konstantinović, Dušan Marinković, Snežana Tanasković

<b>GC-MSD analysis of the <i>Melaleuca alternifolia</i> chemical composition.....</b>	<b>68</b>
---	-----------

Helena Ereš, Karolina Vrandečić, Jelena Ilić, Jasenka Ćosić

<b>Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija <i>Rhizoctonia solani</i> .....</b>	<b>72</b>
<b>Influence of essential oils on the growth of <i>Rhizoctonia solani</i> mycelium .....</b>	<b>75</b>

Lucija Galić, Tomislav Vinković, Katarina Perić, Franjo Nemet, Ivona Kučera, Zdenko Lončarić

<b>Efficiency of selenium agronomic biofortification: I. The influence of the method of application .....</b>	<b>76</b>
<b>Učinkovitost agronomske biofortifikacije selenom: I. Utjecaj načina aplikacije selena .....</b>	<b>80</b>

Lucija Galić, Tomislav Vinković, Franjo Nemet, Katarina Perić, Ivona Kučera, Zdenko Lončarić

<b>Efficiency of selenium agronomic biofortification: II. The influence of the form of selenium .....</b>	<b>81</b>
<b>Učinkovitost agronomske biofortifikacije selenom: II. Utjecaj oblika selena.....</b>	<b>84</b>

Iva Hrelja, Ivana Šestak, Aleksandra Perčin, Igor Bogunović

<b>Mapping of soil chemical properties immediately after fire in Mediterranean Croatia.....</b>	<b>85</b>
---	-----------

Sanja Jelić Milković, Ružica Lončarić, Tihana Sudarić, Jadranka Deže, Zdenko Lončarić

<b>Gospodarski potencijal poljoprivrednih ostataka na području Osječko-baranjske županije .....</b>	<b>90</b>
<b>Economic potential of agricultural residues in the area of Osijek-Baranja County .....</b>	<b>95</b>

Tomislav Karažija, Josip Leto, Brigita Vidaković, Nikola Bilandžija, Neven Voća, Milan Poljak

<b>Utjecaj primjene komunalnog mulja na kemijska svojstva tla i prinos trave <i>Miscantus x giganteus</i> .....</b>	<b>96</b>
<b>The effect of sewage sludge application on soil chemical properties and yield of grass <i>Miscantus x giganteus</i>.....</b>	<b>101</b>

Filip Kranjčec, Nada Maurović, Marina Diana Pišk, Benjamin Atlija, Damir Andabaka,  
Ivan Šimunić

<b>Kakvoća površinskih voda u agroekološkom području Sisačko-moslavačke županije.....</b>	<b>102</b>
<b>Quality of surface water in agro-ecological areas of Sisak-Moslavina County.....</b>	<b>106</b>

Hrvoje Kutnjak, Josip Leto	
<b>Mogućnosti korištenja satelitskih snimaka Sentinel-2 za procjenu produktivnosti pašnjaka podnožja Dinare.....</b>	<b>107</b>
<b>Possibilities of using Sentinel-2 satellite imagery to estimate the Dinara foothills pasture productivity .....</b>	<b>111</b>
Monika Marković, Atilgan Atilgan, Sabrija Čadro, Marko Oršolić, Vladimir Zebec	
<b>The evaluation of effective rainfall under different climatic conditions.....</b>	<b>112</b>
Aleksandra Perčin, Željka Zgorelec, Milan Mesić, Dajana Pejaković, Ivana Šestak	
<b>Vertical distribution of soil organic carbon under different nitrogen fertilization levels .....</b>	<b>117</b>
Jura Perković, Gloria Ninković, Alka Turalija	
<b>Mogući model čišćenja površinskih voda organizacijom malih vrtne jezerca u Našicama.....</b>	<b>122</b>
<b>Possibility of surface water treatment by organizing small garden ponds in Našice.....</b>	<b>127</b>
Marija Poljak, Ivica Kisić, Željka Zgorelec, Ivana Šestak, Marija Galić, Željka Kuharić, Mirela Jukić, Antonija Galić, Sandra Šikić, Aleksandra Perčin	
<b>Utjecaj fungicida i nagiba padine na prostornu akumulaciju bakra u poljoprivrednim tlima.....</b>	<b>128</b>
<b>Effects of fungicides application and slope on the spatial copper distribution in agricultural soils .....</b>	<b>133</b>
Brigita Popović, Mirna Habuda-Stanić, Ante Bubalo, Đurđica Kovačić, Vladimir Zebec, Anamarija Dellavia	
<b>Potencijalna primjena pročišćene otpadne vode iz EL-TO Zagreb u poljoprivredi .....</b>	<b>134</b>
<b>Potential usage of treated wastewater from EL-TO Zagreb in agriculture.....</b>	<b>138</b>
Marija Ravlić, Renata Baličević, Monika Marković, Jelena Ravlić, Matej Mijić	
<b>Seed allelopathy between herbs and weed species.....</b>	<b>139</b>
<b>Alelopatske interakcije među sjemenom ljekovitih i aromatičnih biljaka i korovnih vrsta .....</b>	<b>143</b>
Vedran Rubinić, Ana Marija Krajnik, Ivan Magdić	
<b>Utjecaj uklanjanja organske tvari tla na analizu mehaničkog sastava slabo humoznih praškasto ilovastih uzoraka .....</b>	<b>144</b>
<b>Effect of soil organic matter removal on the particle size analysis of the selected soil samples .....</b>	<b>148</b>
Mario Sraka, Stjepan Milobara, Jerko Gunjača, Radica Ćorić	
<b>Procjena hidropedoloških značajki temeljem mehaničkog sastava, volumne gustoće i ukupne poroznosti tla.....</b>	<b>149</b>
<b>Assessment of water retention properties based on texture, bulk density and total porosity of soil.....</b>	<b>153</b>
Ivan Širić, Valentino Držaić, Ivica Kos, Ante Kasap, Boro Mioč, Marija Crljenjak	
<b>Akumulacija nikla i kroma u samoniklim jestivim gljivama .....</b>	<b>154</b>
<b>Accumulation of nickel and chromium in wild edible mushrooms.....</b>	<b>159</b>
Krešimir Šunjić, Jurica Jović, Goran Jukić, Suzana Kristek, Vladimir Ivezić, Ivan Varnica, Dario Iljkić	
<b>Utjecaj mikrobioloških inokulanata za tretman sjemena na prinos i kakvoću soje.....</b>	<b>160</b>
<b>The influence of microbial seed treatment inoculants on yield and quality of soybean .....</b>	<b>164</b>

Marina Vranić, Krešimir Bošnjak, Matea Županović, Anja Novak, Ines Lisjak, Diana Brozić, Tomislav Mašek	
<b>Utjecaj NPK, učestalosti i količine jesenske primjene stajskog gnoja na prinos krme poluprirodnog travnjaka.....</b>	<b>165</b>
<b>The effect of frequency and quantity of autumn farm yard manure application on semi-natural grassland yield.....</b>	<b>169</b>
Vladimir Zebec, Miroslav Dadić, Irena Rapčan, Tomislav Matančević, Zoran Semialjac, Domagoj Rastija	
<b>Analiza proizvodnje različitog povrća u uvjetima navodnjavanja.....</b>	<b>170</b>
<b>Analysis of different vegetables production under irrigation conditions .....</b>	<b>174</b>

## 02

### Agroekonomika i ruralni razvoj Agricultural Economics and Rural Development

Tajana Čop, Ana Čehić, Mario Njavro, Martina Begić, Smiljana Goreta Ban, Josip Juračak, Milan Oplanić	
<b>Percepcija nositelja poljoprivrednih gospodarstava o utjecaju i posljedicama klimatskih promjena .....</b>	<b>177</b>
<b>Farm holders' perceptions of the impacts and consequences of climate change .....</b>	<b>181</b>
Dušanka Gajdić, Dejan Marenčić, Gorana Pavičić	
<b>Utjecaj čimbenika kvalitete na percepciju potrošača prilikom odluke o kupnji u kratkim lancima opskrbe hranom .....</b>	<b>182</b>
<b>Influence of quality factors on consumer perception when making a purchase decision in short food supply chains.....</b>	<b>187</b>
Iva Gregurec, Katarina Tomičić-Pupek, Tin Bartolec	
<b>Influence of virtual communities on customer perception in agriculture .....</b>	<b>188</b>
Lari Hadelan, Stjepan Špoljar, Magdalena Zrakić Sušac, Ornella Mikuš, Mateja Jež Rogelj	
<b>Značajke vanjske trgovine poljoprivredno-prehrambenih proizvoda Hrvatske određene analizom jediničnih cijena .....</b>	<b>193</b>
<b>Features of international trade of Croatian agri-food products by unit price analysis.....</b>	<b>197</b>
Larisa Hrustek, Martina Tomičić Furjan, Alen Džidić, Dragica Šalamon, Filip Varga, Bastiaan van Loenen	
<b>Key stakeholder groups for digital innovation of agriculture in Croatia .....</b>	<b>198</b>
Sanja Jelić Milković, Ružica Lončarić, Jelena Kristić, Ana Crnčan, Igor Kralik, Kristina Gvozdanović, Goran Kušec, Ivona Djurkin Kušec, Zlata Kralik	
<b>Važnost intrinzičnih i ekstrinzičnih obilježja kvalitete pri kupnji svježeg svinjskog mesa - pregled dosadašnjih istraživanja.....</b>	<b>203</b>
<b>The importance of intrinsic and extrinsic quality characteristics when buying fresh pork meat - a review of previous research.....</b>	<b>208</b>

Mateja Jež Rogelj, Ornella Mikuš, Tijana Trako Poljak, Lari Hadelan	
<b>Uloga poljoprivrede u ruralnom razvoju .....</b>	<b>209</b>
<b>The role of agriculture in rural development.....</b>	<b>213</b>
Josip Juračak, Marija Purić	
<b>Kvantifikacija utjecaja sezonskog faktora na cijene paprike rog, krastavca i kornišona.....</b>	<b>214</b>
<b>Quantifying the effect of seasonal factor on bullhorn pepper, cucumber and gherkin.....</b>	<b>218</b>
Ivan Kelić	
<b>Mišljenje studenata o učinkovitosti komunikacijskih kanala i atributa za brendiranje Slavonije .....</b>	<b>219</b>
<b>Students' opinion on the effectiveness of communication channels and attributes for branding in Slavonia .....</b>	<b>225</b>
Damir Kovačić, Antonija Šantalab, Željka Mesić	
<b>Poznatost i zadovoljstvo potrošača vinima hrvatskih autohtonih sorti .....</b>	<b>226</b>
<b>Wine familiarity and consumer satisfaction with wines of Croatian autochthonous varieties .....</b>	<b>230</b>
David Kranjac, Krunoslav Zmaić, Tihana Sudarić, Marko Krivić	
<b>Analiza razvoja poljoprivredne proizvodnje u Vukovarsko-srijemskoj županiji .....</b>	<b>231</b>
<b>Agricultural production development analysis in the Vukovar-Srijem County .....</b>	<b>235</b>
Jelena Kristić, Jadranka Deže, Zlata Kralik, Sanja Jelić Milković, Ana Crnčan	
<b>Karakteristike potrošnje mlijeka kod mlade populacije .....</b>	<b>236</b>
<b>Characteristics of milk consumption among young population .....</b>	<b>240</b>
Jelena Kristić, Tihana Sudarić, Kristina Gvozdanić, Dubravka Živoder, Ana Crnčan	
<b>Karakteristike potrošnje fermentiranih i „low fat“ mliječnih proizvoda kod mlade populacije.....</b>	<b>241</b>
<b>Characteristics of fermented and low-fat dairy products consumption among young population.....</b>	<b>245</b>
Slavica Kuzmić, Tea Perlić, Đurđica Žutinić	
<b>Izvanobiteljska sukcesija poljoprivrednih gospodarstava iz perspektive mladih .....</b>	<b>246</b>
<b>Extrafamilial farm succession from the point of view of young people.....</b>	<b>251</b>
Ružica Lončarić	
<b>Utjecaj pandemije COVID-19 na tržište hrane .....</b>	<b>252</b>
<b>Impact of the COVID-19 pandemic on the food market .....</b>	<b>257</b>
Željka Mesić, Barbara Cvek, Marija Cerjak	
<b>Mišljenje studenata o utjecaju turizma na komponente održivog razvoja .....</b>	<b>258</b>
<b>Students' opinions about the impact of tourism on the components of sustainable development .....</b>	<b>262</b>
Ornella Mikuš, Mislav Klemenić, Mateja Jež Rogelj, Lari Hadelan, Tihana Sudarić	
<b>Čimbenici apsorpcije iz Europskih strukturnih i investicijskih fondova (ESIF) od 2014. do 2020. godine.....</b>	<b>263</b>
<b>Absorption factors from the European Structural and Investment Funds (ESIF) from 2014 to 2020.....</b>	<b>268</b>
Vesna Očić, Nikola Hinić, Kristina Batelja Lodeta, Branka Šakić Bobić	
<b>Opasnost od stečaja odabranih craft pivovara u Hrvatskoj.....</b>	<b>269</b>
<b>Possibility of bankruptcy for selected craft breweries in Croatia .....</b>	<b>273</b>

Tajana Radić, Ornella Mikuš, Saša Paprika, Dario Gazić	
<b>Udruživanje hrvatskih poljoprivrednika u proizvođačke organizacije: izgledi u kontekstu novog zakonodavstva.....</b>	<b>274</b>
<b>Association of Croatian farmers in producer organizations: prospects in the context of new legislation .....</b>	<b>278</b>
Ivana Rendulić Jelušić, Josip Kraljičković, Marko Karoglan, Zoran Grgić, Branka Šakić Bobić	
<b>Stav vinogradara Zagrebačke županije prema novim tehnologijama za praćenje vinogradarske proizvodnje .....</b>	<b>279</b>
<b>Attitude of Zagreb county winegrowers towards new technologies for viticulture production monitoring .....</b>	<b>283</b>
Luka Samardžija, Tihana Sudarić, Ornella Mikuš	
<b>Vinarstvo kao nositelj razvoja ruralnog turizma Požeško-slavonske županije .....</b>	<b>284</b>
<b>Winemaking as a carrier of rural tourism development in Požega-Slavonia county .....</b>	<b>288</b>
Ivan Spužević, Božana Miličević	
<b>Točka pokrića u maslinarskoj proizvodnji na primjeru hercegovačkog OPG-a.....</b>	<b>289</b>
<b>Break-even point in olive production on the example of a Herzegovinian family farm .....</b>	<b>294</b>
Tihana Sudarić, Martina Matuš, Krunoslav Zmaić	
<b>Sinergijsko djelovanje agro-klastera i turizma.....</b>	<b>295</b>
<b>Synergy of agricultural clusters and tourism .....</b>	<b>299</b>
Tihana Sudarić, Krunoslav Zmaić, Ivan Janić	
<b>Mogućnosti razvoja poljoprivrednih gospodarstva kroz mjere iz Programa ruralnog razvoja Republike Hrvatske .....</b>	<b>300</b>
<b>Possibilities for the development of agricultural holdings through measures under the Program of Rural Development .....</b>	<b>304</b>
Dragica Šalamon, Martina Tomičić Furjan, Alen Džidić, Filip Varga, Larisa Hrustek, Bastiaan van Loenen	
<b>Promoting digital innovation: Identifying the key elements in agricultural open data ecosystem in Croatia .....</b>	<b>305</b>
Martina Tomičić Furjan, Martina Đuras, Iva Gregurec	
<b>Influence factors on decisions in agriculture .....</b>	<b>311</b>
Marina Tomić Maksan, Željka Mesić, Marin Mihaljević Žulj	
<b>Ponašanje pripadnica generacije Y u potrošnji gina .....</b>	<b>316</b>
<b>Generation Y females behaviour in gin consumption .....</b>	<b>320</b>
Tijana Trako Poljak, Vladimir Ivanović, Bruno Šimac	
<b>Socio-ecological challenges of rural development in Croatia .....</b>	<b>321</b>
Alexander Wirsig, Wolfgang Heisrath, Roman Lenz	
<b>Preservation of autochthonous species and traditional knowledge by using intellectual property rights. A case study from the German state of Baden-Württemberg.....</b>	<b>327</b>
Magdalena Zrakić Sušac, Ivo Grgić, Lea Kunštović, Lari Hadelan, Mateja Jež Rogelj	
<b>Ekoturizam u zaštićenom području kao faktor održivoga razvoja ruralnih područja - primjer Lonjskog polja .....</b>	<b>332</b>
<b>Ecotourism in a protected area as a factor of sustainable development of rural areas - the example of Lonjsko polje.....</b>	<b>336</b>



# 03

## Genetika, oplemenjivanje bilja i sjemenarstvo Genetics, Plant Breeding and Seed Production

Snježana Bolarić, Aleš Vokurka, Gordana Kožarić Silov, Zorica Kauf, Kristina Batelja Lodeta, Đani Benčić

<b>Morfološka i molekularna karakterizacija sorte masline 'Krvavica' s područja skradinskog zaleđa .....</b>	<b>339</b>
<b>Morphological and molecular characterization of olive cultivar 'Krvavica' from Skradin area .....</b>	<b>343</b>

Vlatko Galić, Tatjana Ledenčan, Antun Jambrović, Zvonimir Zdunić, Ivana Podnar Žarko, Domagoj Šimić

<b>Time-resolved chlorophyll fluorescence measurements in maize reveal different patterns of responses to increasing temperatures among maturity groups .....</b>	<b>344</b>
<b>Mjerenje fluorescencije klorofila kroz vrijeme pokazuje različite uzorke reakcija na visoke temperature između skupina dozrijevanja .....</b>	<b>347</b>

Goran Herman, Vlado Guberac, Ranko Gantner, Meri Engler, Gordana Bukvić

<b>Kvaliteta sjemena engleskog ljujla (<i>Lolium perenne L.</i>) nakon 12 godina skladištenja na različitim temperaturama .....</b>	<b>348</b>
<b>Perennial ryegrass (<i>Lolium perenne L.</i>) seed quality after 12 years of storage at different temperatures .....</b>	<b>352</b>

Goran Jukić, Krešimir Šunjić, Ivan Varnica, Željka Cegur, Ivica Delić, Ivica Beraković

<b>Prinos i kakvoća sjemena soje na lokaciji Osijek .....</b>	<b>353</b>
<b>Soybean yield and quality at location Osijek .....</b>	<b>357</b>

Tihana Lovrić, Sanja Grubišić, Sonja Petrović, Sunčica Guberac, Vedran Orkić, Andrijana Rebekić

<b>Varijabilnost sadržaja proteina u soku pšenične trave .....</b>	<b>358</b>
<b>Variability of protein content in wheatgrass juice .....</b>	<b>362</b>

Sonja Petrović, Sunčica Guberac, Andrijana Rebekić, Vedran Orkić, Vlado Guberac, Sonja Vila

<b>Gen kolekcija strnih žitarica FAZOS-a .....</b>	<b>363</b>
<b>FAZOS gen collection of cereals .....</b>	<b>367</b>

Domagoj Stepinac, Ivan Pejić, Domagoj Šimić

<b>Modeling the long-term response of yield to heat stress for maize genotypes of different maturity .....</b>	<b>368</b>
<b>Modeliranje višegodišnjeg odgovora prinosa zrna genotipova kukuruza različite zriobe na uvjete toplinskog stresa .....</b>	<b>372</b>

Aleš Vokurka, Kristina Batelja Lodeta, Snježana Bolarić, Lukša Hropić, Mia Majić, Đani Benčić

<b>Utvrđivanje genetske varijabilnosti unutar sorte masline 'Piculja' molekularnim i morfološkim markerima .....</b>	<b>373</b>
<b>Determination of genetic variability within the olive variety 'Piculja' by molecular and morphological markers .....</b>	<b>377</b>

# 04

## Povrčarstvo, ukrasno, aromatično i ljekovito bilje Vegetable Growing, Ornamental, Aromatic and Medicinal Plants

Iva Bažon, Dean Ban, Igor Lukić, Nikola Major, Josipa Perković, Bernard Prekalj,  
Smiljana Goreta Ban

<b>Istrian garlic ecotypes differ in the content of allicin and volatile organosulfur compounds .....</b>	<b>381</b>
<b>Ekotipovi češnjaka iz Istre razlikuju se u sadržaju alicina i hlapivih spojeva .....</b>	<b>387</b>

Dubravka Dujmović Purgar, Valentina Maršić, Vesna Židovec, Sandro Bogdanović,  
Ksenija Karlović, Zlatko Svečnjak

<b>Inventarizacija i potencijalna uporabna vrijednost invazivne flore na području grada Velike Gorice .....</b>	<b>388</b>
<b>Inventory of invasive flora of the city of Velika Gorica and its potential use value .....</b>	<b>392</b>

Katarina Martinko, Petra Tolvajčić, Edyta Đermić, Damir Đermić

<b>Određivanje minimalne inhibitorne koncentracije borne kiseline u suzbijanju fitopatogene bakterije <i>Pseudomonas tomato</i> .....</b>	<b>393</b>
<b>Determination of minimum inhibitory concentration of boric acid on phytopathogenic bacterium <i>Pseudomonas tomato</i> .....</b>	<b>397</b>

Anisa Peçuli, Anila Kopali, Onejda Kyçyk, Nertil Xhaferaj

<b>Effect of processing technology in olive oil quality parameters .....</b>	<b>398</b>
--	------------

Svjetlana Zeljković, Jelena Davidović Gidas, Nada Parađiković, Emina Mladenović

<b>Micropropagation of African violet (<i>Saintpaulia ionantha</i> H.Wendl.) .....</b>	<b>403</b>
--	------------

Dragan Žnidarčič

<b>Yield attributes of dandelion (<i>Taraxacum officinale</i> Web.) in response to foliar application with selenium .....</b>	<b>408</b>
---	------------

# 05

## Ratarstvo Field Crop Production

Robert-Aron Baronji, Manda Antunović, Vladimir Zebec, Ivana Varga

<b>Komponente prinosa uljane repice u ekološkoj proizvodnji .....</b>	<b>415</b>
<b>Yield components of oilseed rape in organic agriculture .....</b>	<b>419</b>

Daniel Haman

<b>The Vinodol Law provisions related to wheat as the most important agricultural crop in the Middle Ages .....</b>	<b>420</b>
---	------------

Dario Iljkić, Ivan Efinger, Mirta Rastija, Bojan Stipešević, Miro Stošić, Ivana Varga	
<b>Prinos, agronomska i morfološka svojstva kukuruza različitih FAO skupina.....</b>	<b>424</b>
<b>Yield, agronomic and morphological properties of maize from the different FAO groups ...</b>	<b>428</b>
Jurica Jović, Suzana Kristek, Daniela Horvat, Ilija Ivanković, Vladimir Zebec, Ivan Romić, Berislav Prakatur	
<b>Primjena mikrobiološkog preparata s ciljem smanjenja mineralne gnojidbe fosforom u proizvodnji soje na kiselom tlu .....</b>	<b>429</b>
<b>Possibility of reducing phosphorus fertilization by applying microbial preparation in soybean production on acid soil .....</b>	<b>433</b>
Franjo Nemet, Mirta Rastija, Dario Iljkić, Miro Stošić, Vladimir Zebec, Ivana Varga, Katarina Perić, Zdenko Lončarić	
<b>Analiza utjecaja vremenskih prilika i agrotehnike na prinose kukuruza tijekom petogodišnjeg razdoblja .....</b>	<b>434</b>
<b>Analysis of weather conditions and agrotechnique impact on the maize grain yield during a five-year period .....</b>	<b>438</b>
Jasenska Petrić, Michael Sulyok, Karolina Vrandečić, Rudolf Krska, Bojan Šarkanj	
<b>Pojavnost ergot alkaloida u raži u Republici Hrvatskoj .....</b>	<b>439</b>
<b>Ergot alkaloids occurrence in rye in Republic of Croatia .....</b>	<b>443</b>
Ankica Sarajlić, Ivana Majić, Mirjana Brmež, Marko Josipović, Zlatko Puškadija, Marin Kovačić, Emilija Raspudić	
<b>Koliko mjesto oštećenja na stabljici od kukuruznoga moljca utječe na prinos kukuruza?....</b>	<b>444</b>
<b>How much stalk damage site from the European corn borer affects maize yield? .....</b>	<b>448</b>
Ivana Varga, Antonela Markulj Kulundžić	
<b>Primjena herbicida u suncokretu i njihov utjecaj na okoliš .....</b>	<b>449</b>
<b>The use of herbicide in sunflower cultivation and their impact on the environment .....</b>	<b>454</b>
Gorica Vuković, Vojislava Bursić, Tijana Stojanović, Bojan Konstantinović, Bojana Špirović- Trifunović, Aleksandra Petrović, Sonja Gvozdenac, Nikola Puvača, Dušan Marinković	
<b>Occurrence of tropane alkaloids in maize .....</b>	<b>455</b>
Helena Žalac, Vladimir Zebec, Miro Stošić, Brigita Popović, Ante Bubalo, Jurica Jović, Goran Herman, Ivan Paponja, Vladimir Ivezić	
<b>Barley yield, yield components and nutrient content in intercropped system of walnut and barley .....</b>	<b>460</b>
<b>Prinos ječma, komponente prinosa i sadržaj hranjivih elemenata u konsocijacijskom sustavu oraha i ječma .....</b>	<b>464</b>

# 06

## Ribarstvo, lovstvo i pčelarstvo Fisheries, Game Management and Beekeeping

Ivana Flanjak, Ljiljana Primorac, Milica Cvijetić Stokanović, Zlatko Puškadija,  
Blanka Bilić Rajs, Marin Kovačić

**Melittin stability in honey bee venom under different storage conditions measured  
with RP-HPLC-PDA method..... 467**

Neven Iveša, Raoul Filipas, Oliver Barić, Martina Gelli, Ivan Radetić, Antonio Castelletchio,  
Jurica Jug-Dujaković, Ana Gavrilović

**Trammel net by-catch composition in the Bay of Medulin ..... 472**  
**Sastav prilova mreže poponice u Medulinskom zaljevu ..... 476**

Dinko Jelkić, Anđelko Opačak, Vlatka Mihaljević

**Ihtiofauna Aljmaškog rita ..... 477**  
**Ichthyofauna of Aljmaški rit ..... 481**

Krešimir Krapinec, Marina Vranić, Goran Kiš, Darko Uher

**The utilisation of three woody species by European mouflon in Mediterranean part of  
Croatia ..... 482**

Martina Krog, Lidija Svečnjak, Saša Prđun, Marica Dražić, Dragan Bubalo

**Botaničko podrijetlo i fizikalno-kemijska svojstva bagremova meda s područja  
Krapinsko-zagorske županije ..... 488**  
**Botanical origin and physicochemical properties of black locust honey from Krapina –  
Zagorje County ..... 492**

Polona Margeta, Damir Jakšić, Vladimir Margeta, Ivica Bošković

**Optimization of the genomic DNA extraction methods and the alternative PCR  
technique for sex identification in captive birds..... 493**

Zvonimir Marijanović, Dominik Siroglavić, Mladenka Šarolić, Tomislav Svalina,  
Tomislav Pavlešić, Ivana Gobin

**Hlapljivi spojevi meda s dodatkom koncentriranog voćnog soka od maline ..... 498**  
**Volatile compounds of honey with the addition of concentrated raspberry fruit juice ..... 502**

Anita Mindum, Ivana Flanjak, Valentina Obradović, Ana Mrgan, Helena Marčetić,  
Ariana Penava

**Kvaliteta meda u ugostiteljskim objektima Požeško-slavonske županije ..... 503**  
**Quality of honey in catering facilities in Požeško-slavonska county ..... 507**

Juraj Petravić, Dajana Majnarić, Krešimir Kuri, Margarita Maruškić Kulaš, Goran Jakšić,  
Helena Jajčević, Ivana Zrinščak, Martina Petravić

**Distribution, age and growth of the translocated invasive Northern pike (*Esox lucius*,  
L.) in the upper course of the Vrljika River in the Adriatic Basin ..... 508**  
**Rasprostranjenost, dob i rast translocirane invazivne vrste štuke (*Esox Lucius*, L.) u  
gornjem toku rijeke Vrljike u Jadranskom slivu..... 513**

Zvezdana Popović Perković, Jelena Kurtović Mrčelić, Josip Boban, Tina Bonačić, Maja Krželj, Marin Ordulj	
<b>Bioraznolikost školjkaša na kolektorima za ličinke školjkaša na ušću Cetine.....</b>	<b>514</b>
<b>Shellfish biodiversity on a larvae mesh bag collector at the Cetina estuary .....</b>	<b>519</b>
Saša Prđun, Matea Barić, Marica Maja Dražić, Dragan Bubalo, Lidija Svečnjak	
<b>The influence of pollen trap type on the amount of collected bee pollen and honey bee colony development.....</b>	<b>520</b>
Tena Radočaj, Lorenzo Vilizzi, Ivan Špelić, Meta Povž, Marina Piria	
<b>Horizon scanning of potentially invasive non-native fish species for Croatia and Slovenia .....</b>	<b>525</b>
<b>Skeniranje horizonta potencijalno invazivnih stranih vrsta riba za Hrvatsku i Sloveniju.....</b>	<b>530</b>
Lidija Svečnjak, Marko Levanić, Jelena Horvatinec, Marko Vinceković, Irina Tanuwidjaja, Mirna Mrkonjić Fuka	
<b>Primjena infracrvene spektroskopije u identifikaciji sastavnica pčelinjeg otrova.....</b>	<b>531</b>
<b>Application of infrared spectroscopy in the identification of bee venom constituents .....</b>	<b>535</b>
Ivan Špelić, Petra Štefanac Šporčić, Tena Radočaj, Ana Gavrilović, Marina Piria	
<b>Stress characterization of ichthyofauna in natural lowland streams and artificially created waterbodies.....</b>	<b>536</b>
<b>Karakterizacija stresa ihtiofaune u prirodnim nizinskim vodotocima i umjetno stvorenim vodenim tijelima.....</b>	<b>540</b>
Kristijan Tomljanović, Karlo Beljan, Matija Plantosar, Marijan Grubešić	
<b>Potencijali, troškovi i koristi gospodarenja velikim vranцем (<i>Phalacrocorax carbo sinensis</i>).....</b>	<b>541</b>
<b>Resources, costs and benefits of Cormorant (<i>Phalacrocorax carbo sinensis</i>) management.....</b>	<b>545</b>

# 07

## Stočarstvo

### Animal Husbandry

Zvonko Antunović, Željka Klir Šalavardić, Josip Novoselec	
<b>Aktivnost enzima i koncentracija hormona štitaste žlijezde u krvi ovaca i janjadi.....</b>	<b>549</b>
<b>Blood Enzymes activities and thyroid hormone concentration in the blood of sheep and lambs.....</b>	<b>553</b>
Dalibor Bedeković, Luka Dlesk, Zlatko Janječić, Jasna Pintar, Goran Kiš, Gordana Duvanjak, Ivan Širić, Ivica Kos	
<b>Utjecaj pigmenta kantaksantina u krmnim smjesama na boju kože tovnih pilića.....</b>	<b>554</b>
<b>Influence of canthaxanthin pigment in compound feeds on the skin color of broilers .....</b>	<b>557</b>
Krešimir Bošnjak, Marina Vranić, Vilena Šuman, Barbara Oštarić, Kristina Starčević, Tomislav Mašek	
<b>Utjecaj dodatka kukuruza i sirutke u prahu na konzumaciju i bilancu vode u hranidbi kastriranih ovnova.....</b>	<b>558</b>
<b>The effect of whey addition to maize on intake and water balance in wether sheep.....</b>	<b>562</b>

Draženko Budimir, Vesna Gantner, Pero Mijić	
<b>Utjecaj sezone teljenja i regije na sadržaj ureje u mlijeku krava holstein pasmine.....</b>	<b>563</b>
<b>The influence of the calving season and the region on the content of urea in milk in cows of the Holstein breed .....</b>	<b>567</b>
Iva Bunić, Tihomir Živić, Maja Gregić, Tina Bobić, Pero Mijić, Mirjana Baban	
<b>Konjički svijet tijekom pandemije COVID-a .....</b>	<b>568</b>
<b>Equestrian World during the COVID Pandemic .....</b>	<b>572</b>
Mato Čačić, Marica Dražić, Nina Karapandža	
<b>Značaj utemeljenja nacionalne mreže animalnih banki gena.....</b>	<b>573</b>
<b>The importance of establishing a national network of animal gene banks .....</b>	<b>577</b>
Mato Čačić, Marica Maja Dražić, Ana Čačić, Nina Karapandža	
<b>Djeca kao potencijal razvoja hrvatske konjičke industrije .....</b>	<b>578</b>
<b>Children - The foundation of the development of the Croatian horse industry .....</b>	<b>583</b>
Valentino Držaić, Ivan Širić, Ante Kasap, Josip Novoselec, Željka Klir Šalavardić, Zvonko Antunović, Boro Mioč	
<b>Utjecaj redosljeda janjenja na porodnu masu i prirast ja njadi travničke pramenke .....</b>	<b>584</b>
<b>Influence of parity on birth weight and growth of Travnik pramenka lambs .....</b>	<b>588</b>
Mislav Đidara, Ana Drašner, Martina Pavlić, Jakov Jurčević, Zdenko Lončarić, Sanela Tomljanović-Stojaković, Marcela Šperanda	
<b>Aktivnost alkalne fosfataze u sluznici tankog crijeva prasadi hranjene različitim izvorima selena .....</b>	<b>589</b>
<b>Intestinal alkaline phosphatase activity in piglets fed different selenium sources .....</b>	<b>593</b>
Maja Gregić, Katarina Janković, Mirjana Baban, Pero Mijić, Vesna Gantner, Tina Bobić	
<b>Karakteristike kobiljeg mlijeka za ljudsku prehranu .....</b>	<b>594</b>
<b>Characteristics of mare's milk for human consumption.....</b>	<b>598</b>
Kristina Gvozdanović, Goran Kušec, Ružica Lončarić, Ivona Djurkin Kušec, Igor Kralik, Jelena Kristić, Sanja Jelić Milković, Zoran Škrtić, Zlata Kralik	
<b>Mišljenje mladih potrošača o kvaliteti smrznutog pilećeg mesa .....</b>	<b>599</b>
<b>Young consumers' opinion on quality of frozen chicken meat.....</b>	<b>604</b>
Ana Kamber, Nikolina Kelava Ugarković, Zvonimir Prpić, Mateja Pećina, Miljenko Konjačić	
<b>Ekološki uzgoj goveda sustavom krava-tele u Hrvatskoj.....</b>	<b>605</b>
<b>Organic cattle farming by cow-calf system in Croatia .....</b>	<b>609</b>
Nicolina Kelava Ugarković, Ana Kaić, Miljenko Konjačić, Zvonimir Prpić	
<b>Građa, svojstva i obrada kože domaćih životinja.....</b>	<b>610</b>
<b>Composition, characteristics and processing of raw animal skins and hides .....</b>	<b>614</b>
Nicolina Kelava Ugarković, Josipa Hadrović, Ivan Vnućec, Miljenko Konjačić, Zvonimir Prpić	
<b>Nusproizvodi životinjskog podrijetla kao hrana za kućne ljubimce .....</b>	<b>615</b>
<b>Animal by-products as component of commercially produced pet food .....</b>	<b>619</b>
Željka Klir Šalavardić, Josip Novoselec, Mario Ronta, Suzana Čavar, Zvonko Antunović	
<b>Fatty acid profile of cheese made of Alpine goat milk .....</b>	<b>620</b>
<b>Masnokiselinski profil sira od alpskih koza .....</b>	<b>624</b>

Ivica Kos, Matea Kocek, Ivan Širić, Miroslav Jůzl, Radka Langová, Dalibor Bedeković, Zlatko Janječić, Ivan Vnućec	
<b>Utjecaj dodatka ovčjeg mesa na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva tradicionalnih trajnih kobasica .....</b>	<b>625</b>
<b>The effect of mutton addition on physicochemical and sensory traits of traditional dry sausages .....</b>	<b>630</b>
Antun Kostelić, Lucija Usorac, Krešimir Salajpal, Boro Mioč	
<b>Zarazna šepavost ovaca u Hrvatskoj .....</b>	<b>631</b>
<b>Footrot in sheep in Croatia .....</b>	<b>634</b>
Zlata Kralik, Gordana Kralik, Danica Hanžek, Žarko Radišić	
<b>Utjecaj težinskih razreda konzumnih jaja na pokazatelje kvalitete .....</b>	<b>635</b>
<b>Influence of table eggs' weight classes on quality indicators .....</b>	<b>639</b>
Marija Meštović, Marijana Vrbančić Igrić, Tatjana Jelen, Damir Alagić, Leon Bogatirov	
<b>Pokazatelji kvalitete jaja križevačke kukmaste kokoši .....</b>	<b>640</b>
<b>Egg quality indicators of "Krivevci crested hen" .....</b>	<b>644</b>
Boro Mioč, Zvonko Antunović, Ivan Širić, Ante Kasap, Ana Kaić, Josip Novoselec, Željka Klir Šalavardić, Gordan Šubara, Valentino Držaić	
<b>Klaonički pokazatelji i odlike trupa istarske ovce .....</b>	<b>645</b>
<b>Carcass and meat quality characteristics of Istrian sheep .....</b>	<b>649</b>
Josip Novoselec, Željka Klir Šalavardić, Zvonimir Steiner, Mario Ronta, Zvonko Antunović	
<b>Influence of reproductive status on hematological parameters of ewes.....</b>	<b>650</b>
<b>Utjecaj reprodukcijskog statusa na hematološke pokazatelje ovaca.....</b>	<b>654</b>
Mario Ronta, Zvonimir Steiner, Josip Novoselec, Željka Klir Šalavardić, Ivana Prakatur	
<b>Proizvodni pokazatelji sisajuće teladi.....</b>	<b>655</b>
<b>Production traits in suckling calves .....</b>	<b>659</b>
Danijela Samac, Đuro Senčić, Zvonko Antunović, Zvonimir Steiner, Josip Novoselec, Ivana Prakatur, Željka Klir Šalavardić	
<b>Utjecaj stelje na zdravstvene i proizvodne pokazatelje u tovu pilića.....</b>	<b>660</b>
<b>Influence of litter on health and production indicators in fattening of chickens .....</b>	<b>664</b>
Marcela Šperanda, Nadine Hagen-Euteneuer, Saša Lončar, Dalibor Đud, Tomislav Šperanda, Mislav Đidara, Neška Vukšić Končevski	
<b>Attenuation of the heat stress in broilers with the addition of LOVIT® to drinking water ....</b>	<b>665</b>
<b>Ublažavanje učinka toplinskog stresa kod brojlera dodatkom LOVIT® u vodi za piće.....</b>	<b>668</b>

# 08

## Voćarstvo, Vinogradarstvo i vinarstvo Viticulture, Enology and Pomology

Željko Andabaka, Mara Banović, Nina Krpan, Edi Maletić, Jasminka Karoglan Kontić,  
Darko Preiner, Zvezdana Marković, Domagoj Stupić, Petra Štambuk, Iva Šikuten,  
Ivana Tomaz

<b>Koncentracija metala u vinima sorte 'Graševina bijela' iz vinogradarske podregije Hrvatsko Podunavlje .....</b>	<b>671</b>
<b>Metal concentration in wines of 'Graševina bijela' variety from viticulture subregion Hrvatsko Podunavlje .....</b>	<b>676</b>

Marina Anić, Petra Rajić, Mirela Osrečak, Marko Karoglan

<b>Usporedba temperature mezoklime vinograda i mikroklike trsa.....</b>	<b>677</b>
<b>Comparison of temperature conditions of the mesoclimate of the vineyard and microclimate of the vine.....</b>	<b>681</b>

Ena Bestulić, Sara Rossi, Tomislav Plavša, Marijan Bubola, Anita Silvana Ilak Peršurić,  
Ana Jeromel, Sanja Radeka

<b>Relationship between some sensory attributes and overall impression of Malvazija istarska wines produced with different vinification techniques .....</b>	<b>682</b>
<b>Povezanost između pojedinih senzornih atributa i ukupnog dojma vina sorte Malvazija istarska proizvedenih različitim vinifikacijskim tehnologijama .....</b>	<b>686</b>

Boris Duralija, Lovro Petković, Martina Skendrović Babojelić, Aleksandar Mešić,  
Dubravka Dujmović Purgar, Vesna Židovec, Tihomir Miličević

<b>Samonikle voćne vrste otoka Korčule .....</b>	<b>687</b>
<b>Wild edible fruit species on the island of Korčula.....</b>	<b>691</b>

Ana-Marija Jagatić Korenika, Ante Zorić, Stipe Ivić, Darko Preiner, Ana Jeromel

<b>Utjecaj različitih sojeva <i>Saccharomyces</i> i ne-<i>Saccharomyces sp.</i> kvasaca na kemijski sastav vina 'Babić' .....</b>	<b>692</b>
<b>Influence of different strains of <i>Saccharomyces</i> and non-<i>Saccharomyces sp.</i> yeast on the chemical composition of cv. Babić wine.....</b>	<b>696</b>

Ana Jeromel, Luna Maslov, Branimir Šimić, Ana-Marija Jagatić Korenika

<b>Primjena kvasca <i>Lachancea thermotolerans</i> u proizvodnji vina 'Blatina' .....</b>	<b>697</b>
<b>Use of <i>Lachancea thermotolerans</i> yeast in Blatina wine production .....</b>	<b>700</b>

Tomislav Kos, Zoran Šikić, Šimun Kolega, Marko Zorica, Kristijan Franin,  
Ana Gašparović Pinto, Šime Marčelić

<b>Utjecaj navodnjavanja na napad ploda sorte „Coratina“ (<i>Olea europaea</i> L.) maslininom muhom (<i>Bactrocera oleae</i> Geml.) .....</b>	<b>701</b>
<b>Irrigation effect on fruit attacked by olive fly (<i>Bactrocera oleae</i> Geml.) of cultivar "Coratina" (<i>Olea europaea</i> L.) .....</b>	<b>705</b>



Marina Lavrić, Ana Jeromel, Tihomir Prusina, Ana-Marija Jagatić Korenika	
<b>Učinak kvasaca <i>Saccharomyces cerevisiae</i> i <i>Lachancea thermotolerans</i> na promjene u kemijskom sastavu vina 'Trnjak' .....</b>	<b>706</b>
<b>Effect of yeast <i>Saccharomyces sp.</i> and <i>Lachancea thermotolerans</i> on changes in the chemical composition of Trnjak wine.....</b>	<b>711</b>
Luna Maslov Bandić, Goran Fruk, Kristina Vlahoviček Kahlina, Kristina Sopko Stracenski, Slaven Jurić	
<b>Application of edible coatings on Satsuma mandarin fruits from Neretva Valley.....</b>	<b>712</b>
Dijana Oreški, Igor Pihir, Nikola Kadoić	
<b>Smart Agriculture: Machine Learning in Modelling Wine Quality Based on Laboratory or IoT Sensory Analysis .....</b>	<b>717</b>
Sara Rossi, Ena Bestulić, Tomislav Plavša, Marijan Bubola, Anita Silvana Ilak Peršurić, Ana-Marija Jagatić Korenika, Sanja Radeka	
<b>Relationship between some sensory attributes and overall impression of Teran wines produced with different vinification techniques .....</b>	<b>723</b>
<b>Povezanost između pojedinih senzornih atributa i ukupnog dojma vina sorte 'Teran' proizvedenog različitim vinifikacijskim tehnologijama .....</b>	<b>728</b>
Jana Šic Žlabur, Ante Galić, Marija Dragobratović, Martina Skendrović Babojelić, Sandra Voća	
<b>Učinak ultrazvučnog tretmana na sadržaj <math>\beta</math>- karotena u soku klementine .....</b>	<b>729</b>
<b>Effect of ultrasound treatment on <math>\beta</math>-carotene content in clementine juice .....</b>	<b>733</b>
Ivica Šnajder, Dinko Zima, Mario Jakobović, Anamaria Soldo	
<b>Anketno istraživanje o utjecaju virusa COVID-19 na konzumaciju plodova voća .....</b>	<b>734</b>
<b>Research by surveying the influence of coronavirus on fruit consumption .....</b>	<b>738</b>
Nikola Tomljenović, Tomislav Jemrić, Marko Vuković	
<b>Diversity of the genus <i>Rosa</i> in the Republic of Croatia .....</b>	<b>739</b>
<b>Diverzitet roda <i>Rosa</i> u Republici Hrvatskoj .....</b>	<b>743</b>
Sandra Voća, Jana Šic Žlabur, Jasmina Družić, Tomislav Jurković, Martina Skendrović Babojelić, Ante Galić	
<b>Kemijski sastav ploda sorti slatke naranče (<i>Citrus sinensis</i> L.).....</b>	<b>744</b>
<b>Nutritional composition of different cultivars of sweet orange (<i>Citrus sinensis</i> L.).....</b>	<b>748</b>
Dinko Zima, Ivica Šnajder, Blanka Đimoti Zima, Leona Zima, Mario Jakobović	
<b>Značaj samoniklih voćnih vrsta u održivom razvoju ruralnih područja Požeške kotline .....</b>	<b>749</b>
<b>The importance of wild fruit species in the sustainable development of rural areas of the Požega valley.....</b>	<b>753</b>

# 09

## Poljoprivredna tehnika Agricultural Technics

Nikola Bilandžija, Katarina Gudeljić, Neven Voća, Mislav Kontek, Josip Lakić, Josip Leto	
<b>Utjecaj različitih agrotehničkih mjera na produktivnost trave <i>Miscanthus</i> .....</b>	<b>757</b>
<b>The influence of different agrotechnical measures on <i>Miscanthus</i> grass productivity .....</b>	<b>761</b>
Mateja Grubor, Nikola Bilandžija, Tajana Krička	
<b>Peletiranje i briketiranje energetskih kultura.....</b>	<b>762</b>
<b>Pelletizing and briquetting of energy crops.....</b>	<b>767</b>
Vanja Jurišić, Mislav Kontek, Magdalena Milinković, Ana Matin, Mateja Grubor	
<b>Karakterizacija biomase novih hibrida <i>Miscanthus sinensis</i> nakon žetve u prvoj vegetacijskoj godini .....</b>	<b>768</b>
<b>Characterization of the novel <i>Miscanthus sinensis</i> hybrids in the first vegetation season.....</b>	<b>773</b>
Mislav Kontek, Luka Brezinščak, Vanja Jurišić	
<b>Mogućnost proizvodnje energije iz kukuruzovine uzgojene u različitim sustavima obrade tla na Pokušalištu Šašinovec .....</b>	<b>774</b>
<b>Possibility of energy production from maize biomass grown in different tillage systems at Šašinovec Experimental Station.....</b>	<b>778</b>
Tajana Krička, Ana Matin, Mateja Grubor	
<b>Utjecaj skladištenja na higroskopsnost sječke <i>Side hermaphrodite</i>.....</b>	<b>779</b>
<b>Influence of storage on the hygroscopicity of <i>Side hermaphrodite</i> chips.....</b>	<b>782</b>
Ana Kutnjak, Katarina Tomičić-Pupek, Igor Pihir	
<b>Digital Transformation Readiness: Case Studies in Agriculture .....</b>	<b>783</b>
<b>Procjena spremnosti za digitalnu transformaciju poljoprivrede u Varaždinskoj županiji.....</b>	<b>788</b>
Josip Leto, Nikola Bilandžija, Hrvoje Kutnjak, Tomislav Karažija, Milan Poljak, Natalija Vugrin, Neven Voća	
<b>Korištenje mulja iz pročištača otpadnih voda u gnojidbi miskantusa.....</b>	<b>7839</b>
<b>Use of sewage sludge in miscanthus fertilization .....</b>	<b>78893</b>
Ana Matin, Zorana Kovačević, Vanja Jurišić	
<b>Valorizacija biomase brnistre i uljane repice za proizvodnju energije .....</b>	<b>794</b>
<b>Valorization of Spanish Broom and rapeseed biomass for energy utilization.....</b>	<b>798</b>
Jona Šurić, Anamarija Peter, Tajana Krička, Josip Leto, Nikola Bilandžija, Neven Voća	
<b>Energetska svojstva miskantusa nakon primjene mulja iz pročištača otpadnih voda .....</b>	<b>799</b>
<b>Energy composition of <i>Miscanthus</i> after application of mud from wastewater treatment plant.....</b>	<b>803</b>
Domagoj Zimmer, Mladen Jurišić, Luka Šumanovac, Pavo Lucić	
<b>Upotreba robota u poljoprivredi.....</b>	<b>804</b>
<b>Use of robots in agriculture .....</b>	<b>810</b>





**Plenarna izlaganja**

**00**

**Plenary lectures**



## Genomic characterisation of European local pig breeds – what has the old breeds thought us

Ivona Djurkin Kušec<sup>1\*</sup>, Goran Kušec<sup>1</sup>, Kristina Gvozdanović<sup>1</sup>, Vladimir Margeta<sup>1</sup>, Luca Fontanesi<sup>2</sup>, Cristina Óvilo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Croatia (idurkin@fazos.hr)*

<sup>2</sup> *Department of Agricultural and Food Sciences, Division of Animal Sciences, University of Bologna, Viale Fanin 46, 40127 Bologna, Italy*

<sup>3</sup> *Departamento Mejora Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Crta. de la Coruña, km. 7,5, 28040, Madrid, Spain*

### Abstract

The paper presents the main activities and results of the genetic investigations undertaken as a part of the large-scale, multidisciplinary project “Diversity of local pig breeds and production systems for high-quality traditional products and sustainable pork chains (TREASURE)” financed under the Horizon 2020 programme. The comprehensive research was performed on 20 European local pig breeds, with many of them being untapped, especially from the genetic point of view. The results of the genetic investigations showed that local pig breeds indeed are an unexploited treasure representing a big genetic pool of the *Sus scrofa* species and ensuring the biodiversity that is significantly reduced in modern pig breeds and hybrids.

**Keywords:** pig, indigenous breed, SNP chip, whole genome sequencing, diversity, conservation

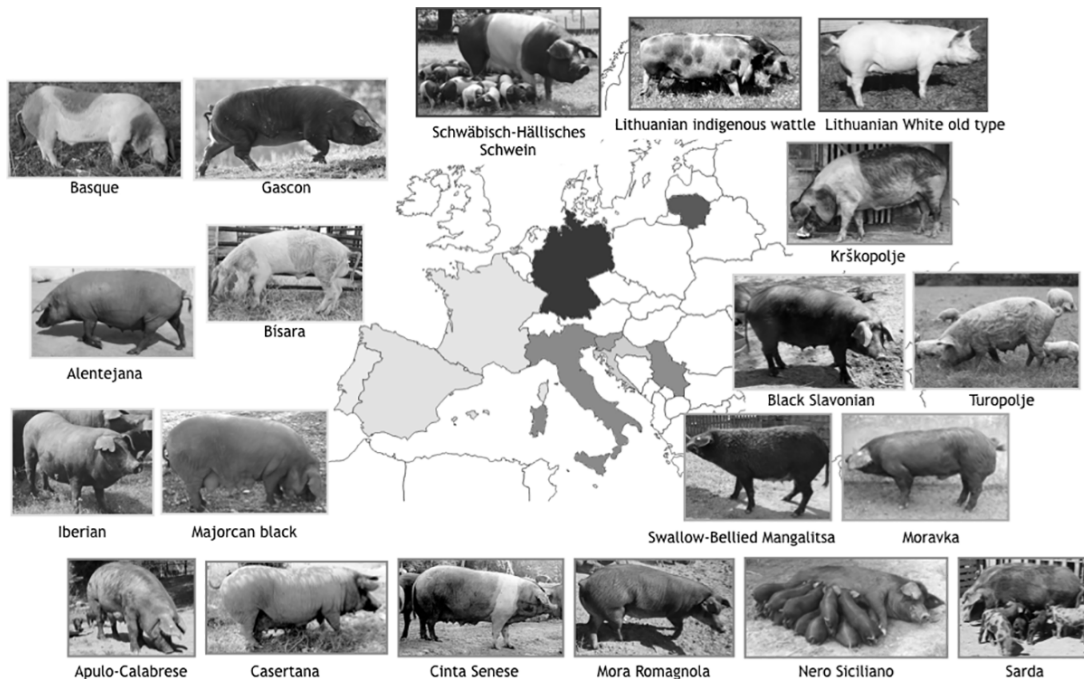
### Introduction

The pig industry plays one of the most important roles in the world’s livestock production today. It is assumed that 43% of the meat worldwide comes from pigs (Ayuso et al., 2015). Most of the pork comes from commercial pig breeds characterised by early maturing, outstanding production traits, characterised by excellent reproductive traits and high lean meat percentage (Knap et al., 2009; Čandek-Potokar et al., 2012). However, these desirable characteristics are often accompanied by poor adaptive and immunological characteristics, as well as serious deterioration in some meat quality traits, such as increased drip loss and reduced intramuscular fat content (Franci et al., 2005; Franco et al., 2014). These traits are very important in pork production, especially in the production of high-quality traditional meat products, due to which local pig breeds have been recently getting more attention.

Old pig breeds are usually fatty or combined meat/fatty types, characterised by lower production traits (daily gain, feed conversion, fertility) compared to commercial breeds and hybrids (Čandek-Potokar et al., 2019). However, these pig breeds are very well known for excellent meat and fat quality. Furthermore, they are very adaptive to different environmental conditions and stressful situations, which makes them indispensable, not only for research on the history of *Sus scrofa* species but also for identifying the genetic mechanisms underlying economically important traits along with their adaptive and immune capacities.

These large opportunities were recognised at the European level and in 2015, a Horizon 2020 financed project under the title “Diversity of local Pig Breeds and Production Systems for High-Quality Traditional Products and Sustainable Pork Chains” was launched. One of the

main objectives of the project was to genetically describe 20 European pig breeds, with an emphasis on the untapped ones, using the SNP microarrays and whole-genome sequencing technology. The investigated breeds were all local, with most of them being insufficiently studied, especially from a genetic point of view. The list of the breeds used in the project together with a graphical representation of their phenotype and geographical localisation is presented in Figure 1.



**Figure 1.** Phenotype and geographical origin of the 20 studied pig breeds: Black Slavonian and Turopolje (Croatia), Basque and Gascon (France), Schwäbisch-Hällisches Schwein (Germany), Apulo-Calabrese, Casertana, Cinta Senese, Mora Romagnola, Nero Siciliano and Sarda (Italy), Lithuanian Indigenous Wattle and Lithuanian White old type (Lithuania), Alentejana and Bísara (Portugal), Moravka and Swallow-Bellied Mangalitsa (Serbia), Krškopolje (Slovenia) and Iberian and Majorcan Black (Spain) (Muñoz et al., 2018).

### Genetic diversity and population structure of the local breeds in Treasure with use of SNP microarrays

The research on the genetic background of the local breeds was performed using a custom designed SNP panel and commercially available high-density microarrays, coupled with whole genome sequencing (WGS) technology. Those investigations led to the identification of genome regions related to between-breed differentiation and also those connected to selective sweeps specific for the investigated pig breeds.

The aim of the first part of the research was to analyse the distribution of causal and candidate mutations associated with productive traits in local pig breeds, and also to evaluate the used SNP panel for its potential to genetically differentiate 20 European local pig breeds (Muñoz et al., 2018). For this purpose, a panel of 39 SNPs was selected and genotyped using the OpenArray Genotyping platform (Thermo Fisher Scientific). SNPs were selected according to their previous evidence of association with relevant traits in pig breeding (morphological, productive, reproductive, meat quality, and disease resistance) prioritizing those with connection to potential or known causal mutations. The obtained results showed

that the chosen SNP panel was accurate for distinguishing the breeds by forming unique clusters indicative of different genotypes. Generally, low segregation of markers involved in coat colour and morphology traits was observed. Among several markers for coat colour analysed, Melanocortin receptor 1 (MC1R) and V-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog (KIT) genes proved to have a significant role in coat colour variation of analysed breeds, with certain alleles existing in high frequency in some of them (e.g., 0.81 for MC1R\*2 or E<sup>D1</sup> allele of Asian origin determining a dominant black colour in Black Slavonian pig). Alleles with effects on production and fatness (Leptin receptor, LEPR; Associated protein gene, FTO; Melanocortin 4 receptor, MC4R; Leptin, LEP; Myostatin, MSTN), meat quality (Phosphoenolpyruvate carboxykinase gene, PCK1; 5'-AMP-activated protein kinase subunit gamma-3 gene, PRKAG3; Acetyl CoA carboxylase alpha gene, ACACA; Calpastatin, CAST; Microsomal triglyceride transfer protein, MTTP), or disease resistance (Mucin 4 gene, MUC4; Guanylate binding protein 5, GBP5) were segregating in most of the analysed breeds.

Additional genotyping of markers at the MC1R (affecting coat colour) and NR6A1 (Nuclear receptor subfamily 6, group A, member 1; affecting vertebrae number) genes using PCR-RFLP and fragment analysis in 12 local pig breeds from Italy and south-eastern (SE) Europe (Slovenia, Croatia, Serbia, and Bulgaria) as well as in wild boar population was carried out (Ribani et al., 2019). The results showed that none of the investigated pig breeds and none of the wild boar populations were fixed for one allele at both loci. Turopolje pig was fixed, however, for the MC1R E<sup>P</sup> allele and Mangalitsa was fixed for the wild type E<sup>+</sup> allele, while allele E<sup>D1</sup> was highly frequent in the Black Slavonian (88%) and quite frequent in Moravka (37%) breeds, testifying to their genetic origin or admixture with Asian-derived populations or breeds including Large Black and Berkshire pigs. On the other hand, a high frequency (82%) of the other dominant black allele (E<sup>D2</sup>) was observed in the Krškopolje pig breed. At the NR6A1 gene, Cinta Senese, Mora Romagnola, Krškopolje, and Moravka pigs showed only the domestic T allele, which was also the most frequent in almost all other breeds. The results of this study showed the complexity of the investigated local pig breeds history, but also a bidirectional introgression of wild and domestic alleles in both autochthonous pig breeds and wild resources.

Although a custom-designed SNP chip proved to be informative for a distinction between 20 local pig breeds, the assessment of genomic diversity and structure of the populations was additionally performed using commercially available High-Density porcine genotyping chip (Muñoz et al., 2019). A total of 985 pigs (average of 47 animals per breed) and a Spanish Wild boar (n=7) were genotyped using the GeneSeek Genomic Profiler (GGP) 70 K HD Porcine chip (Illumina Inc, USA).

The main parameters of genetic variability for the analysed populations are presented in Table 1.



Table 1. Samples size (N), mean minor allele frequency (MAF), observed ( $H_o$ ) and expected ( $H_E$ ) heterozygosity, inbreeding coefficient of an individual (I) relative to the subpopulation (S) ( $F_{IS}$ ) and Wright's fixation index ( $F_{ST}$ ), for each analysed breed (Muñoz et al., 2019).

Breed	N	MAF	$H_o$	$H_E$	$F_{IS}$	$F_{ST}$
Alentejana	48	0.193	0.248	0.259	0.041	0.116
Apulo Calabrese	53	0.228	0.258	0.305	0.138	0.118
Basque	39	0.169	0.240	0.233	-0.026	0.147
Bísara	49	0.270	0.339	0.355	0.045	0.102
Black Slavonian	49	0.262	0.332	0.346	0.040	0.096
Casertana	54	0.246	0.291	0.327	0.095	0.110
Cinta Senese	54	0.220	0.300	0.300	0.011	0.101
Gascon	48	0.224	0.299	0.298	-0.005	0.122
Iberian	49	0.202	0.251	0.270	0.077	0.110
Krškopolje pig	52	0.277	0.363	0.361	-0.003	0.109
Lithuanian Indigenious Wattle	48	0.249	0.354	0.331	-0.066	0.116
Majorcan Black	48	0.210	0.279	0.285	0.005	0.102
Swallow-Bellied Mangalitsa	50	0.192	0.257	0.259	0.006	0.125
Mora Romagnola	48	0.161	0.230	0.220	-0.039	0.161
Moravka	50	0.267	0.348	0.353	0.014	0.101
Nero Siciliano	50	0.272	0.341	0.360	0.052	0.085
Lithuanian White Old Type	51	0.260	0.358	0.341	-0.049	0.119
Sarda	48	0.294	0.358	0.382	0.060	0.092
Schwäbisch-Hällisches Schwein	49	0.264	0.349	0.342	-0.016	0.110
Turopolje	50	0.133	0.195	0.187	0.046	0.159
Wild Boar	7	0.192	0.240	0.254	0.041	0.132
<b>Average</b>	<b>47</b>	<b>0.228</b> <b>(0.044)</b>	<b>0.297</b> <b>(0.053)</b>	<b>0.303</b> <b>(0.054)</b>	<b>0.022</b> <b>(0.050)</b>	<b>0.115</b> <b>(0.020)</b>

The lowest  $H_o$  and  $H_E$  values were observed in Turopolje, Mora Romagnola, Basque, and Wild Boar, while the highest were exhibited by Krškopolje, Sarda, and Old type Lithuanian White breeds. Across-breeds averaged values for  $H_o$  and  $H_E$  ranged between 0.297 ( $\pm 0.053$ ) and 0.303 ( $\pm 0.054$ ), indicating a reduced genetic diversity due to the lack of selection programs and frequent or recurrent admixture. The reason for this could also be due to the small effective population size: in some of the breeds only a few founders were left at the beginning of the preservation programs. This can also be the cause for the high level of inbreeding observed in some of the investigated breeds.

The Neighbor-Joining tree (NJ) constructed from the genetic distances clustered together the breeds geographically close to each other (Figure 2). Basque and Gascon (French breeds); Iberian pig, Alentejana and Wild Boar coming from the Iberian Peninsula; the two Lithuanian breeds (Lithuanian Indigenious Wattle and Lithuanian White old type), and the six Italian breeds (Apulo Calabrese, Casertana, Cinta Senese, Mora Romagnola, Nero Siciliano and Sarda), were all placed in the middle of the unrooted tree.



Figure 2. Neighbour-joining tree constructed with Nei's distances (Muñoz et al., 2019)

The Principal Component Analysis (PCA) showed separated clusters for Mora Romagnola, Turopolje, Gascon, Basque and Old Type Lithuanian White breeds. In some cases, the relationship of the cluster with the breed's geographical origin was distinguished (e.g., Lithuanian or French breeds). Although raised at geographically close areas two Croatian breeds, plotted quite distantly from each other. This is because Turopolje pig is among the oldest breeds in Europe (Károlyi et al., 2019), but also with very high inbreeding level and a small rate of crossbreeding with other pig populations, while the Black Slavonian pig was developed in the 19<sup>th</sup> century by crossing Mangalitsa with several pig breeds modern in that time. Additionally, a close relatedness between the local indigenous breeds and the wild boar was observed. The linkage disequilibrium (LD) analysis showed that in all analysed breeds  $r^2 < 0.2$  at distances lower than 2 Mb was observed, except Mora Romagnola and Turopolje pigs, with  $r^2 < 0.2$  at distances lower than 5 Mb. This high level of long LD extent indicated that these breeds have experienced more unbalanced contributions (bottlenecks) or genetic drift compared with the other pig breeds used in the study.

The concept of effective population size ( $N_e$ ) is a key parameter of the conservation genetic practices because it summarises the history of the population regarding inbreeding and genetic drift and also provides the prospects for the sustainability of the population if the current effective size is maintained in the future (Wang et al., 2016). Calculations of the  $N_e$  across 50 generations showed Wild Boar to have the highest  $N_e$  50 generations ago (521.68), while Mora Romagnola and Turopolje were the breeds with the lowest  $N_e$  values (56.63 and 59.08, respectively). According to Meuwissen (2009), the effective size of the population should be higher than 100 to maintain its diversity. None of the investigated local breeds met this criterion, as can be observed from Table 2. Low effective population size together with reduced genetic diversity and frequent or recurrent admixture events observed confirm the need for the establishment of more effective conservation management strategies in those breeds. The most extreme cases of low  $N_e$  were Casertana, Apulo Calabrese, Turopolje, Mora Romagnola, and both Lithuanian pig breeds (Table 2).

Table 2. Effective population size ( $N_e$ ), standard deviation (SD) in brackets, and sample size by breed (Muñoz et al., 2019)

Breed	$N_e$ (SD)	$N_e$ 50 (SD)
Alentejana	67.96 (0.10)	401.49 (7.11)
Apulo Calabrese	12.38 (0.01)	103.26 (1.087)
Basque	62.98 (0.12)	93.76 (1.23)
Bísara	62.01 (0.06)	251.59 (2.87)
Black Slavonian	33.11 (0.03)	229.56 (2.57)
Casertana	9.44 (0.01)	120.10 (1.21)
Cinta Senese	31.82 (0.03)	177.93 (1.95)
Gascon	81.12 (0.12)	126.27 (1.42)
Iberian	89.18 (0.16)	469.15 (8.99)
Krškopolje pig	39.63 (0.03)	182.22 (1.82)
Lithuanian Indigenous Wattle	18.81 (0.01)	130.27 (1.36)
Majorcan Black	81.86 (0.12)	286.22 (4.16)
Swallow-Bellied Mangalitsa	25.15 (0.02)	134.47 (1.76)
Mora Romagnola	14.68 (0.01)	56.63 (0.71)
Moravka	27.25 (0.02)	217.05 (2.30)
Nero Siciliano	72.14 (0.08)	408.14 (5.40)
Old type Lithuanian White	20.30 (0.01)	139.19 (1.41)
Sarda	48.81 (0.04)	347.90 (4.25)
Schwäbisch-Hällisches Schwein	42.74 (0.04)	178.95 (1.91)
Turopolje	10.21 (0.01)	59.08 (0.87)
Wild Boar	23.01 (0.06)	521.68 (19.85)

In total 115 breed specific regions were detected in 21 analysed pig populations, with a mean of  $5 \pm 3$  regions detected per breed. The number of specific signatures detected in each breed was variable, with some breeds showing a large number of specific regions, such as Turopolje (14 regions) and Mora Romagnola (12 regions), suggesting a higher genetic drift in those breeds. In the identified regions, interesting candidate genes involved in functions and pathways related to productive traits and behaviour were found. For instance, in the Basque breed, genes *ACOX1* (Acyl-coenzyme A oxidase) and *CPT1A* (Carnitine O-palmitoyltransferase), both involved in fatty acid metabolism were identified, while in Iberian, Krškopolje, and Turopolje pigs several candidate genes (Calpain 10, *CAPN10*; Arginyl aminopeptidase like 1, *RNPEPL1*; Proteasome 20S subunit alpha 6, *PSMA6*; Cathepsin V, *CTSV*) involved in proteolysis were found. Selection sweep signatures, used for identification of loci subjected to selection, were found in regions linked primarily to olfactory function, taste and behaviour. In Croatian pig populations, for example, selection sweep signatures have been detected in *LPINI* (Lipin protein) and *TAS2RI6* (Taste 2 receptor member 16) genes for Turopolje pig, and members of the insulin-like growth factor-binding protein gene family in the Black Slavonian pig breed. *LPINI* is associated with obese pig phenotypes and *TAS2RI6* is a member of a taste receptor gene family, with a fundamental role in survival through the identification of dietary nutrients or potentially toxic substances. The insulin-like growth factor binding protein gene family is involved in insulin signalling with a key role in growth, fatness, and energy homeostasis (Lindskog et al., 1990), among other functions.

Interestingly, no selection sweep signatures were detected in *KIT* and *MC1R*, two main genes found to be responsible for coat colour variation in pigs (Kijas et al., 1998). The most probable reason for this is incomplete coverage or informativity of the SNP chip in these particular regions, as hypothesised by the authors.

### Assessing genomic diversity of the local breeds using whole-genome sequencing data

The additional deep genomic population structure analyses were performed by Bovo et al. (2020) using a whole genome sequencing technology. In total, 19 European indigenous pigs breeds (Basque, Gascon, Majorcan Black, Bisara, Alentejana, Apulo-Calabrese, Casertana, Cinta-Senese, Mora Romagnola, Nero Siciliano, Sarda, Moravka, Swallow-Bellied Mangalitsa, Turopolje pig, Black Slavonian pig, Krškopolje pig, Lithuanian White Old Type pig, Lithuanian Indigenous Wattle, Schwäbisch-Hällisches Schwein), three commercial pig breeds (Italian Large White, Italian Landrace, Italian Duroc) and wild boar population were investigated using a DNA-pool sequencing approach.

The Neighbour-Joining tree constructed using the  $F_{ST}$  distances showed clusters that generally agreed with the geographical distribution of the breeds and/or possible relationships between breeds due to introgression or admixture events and in agreement with the previously reported results using an HD microarray chip (Muñoz et al., 2019).

For the detection of selection signatures, two approaches were used: pooled heterozygosity, which identifies signatures of selection by analysing the genetic properties segregating within each breed; and a fixation index, which gives information summarised for each breed compared to all analysed breeds and wild boars. The pooled heterozygosity ( $H_P$ ) per single breed is shown in Table 3.

Table 3. Within breed average pooled heterozygosity ( $H_P$ ) and fixation index ( $F_{ST}$ ) values (Bovo et al., 2020).

Pig population	$H_P$	$F_{ST}$
Alentejana	0.139	0.128
Apulo-Calabrese	0.178	0.130
Basque	0.139	0.169
Bisara	0.196	0.105
Black Slavonian	0.193	0.118
Casertana	0.180	0.125
Cinta Senese	0.154	0.127
Gascon	0.174	0.143
Krškopolje	0.205	0.112
Lithuanian Indigenous Wattle	0.190	0.130
Lithuanian White Old Type	0.151	0.117
Majorcan Black	0.143	0.139
Mora Romagnola	0.122	0.188
Moravka	0.192	0.100
Nero Siciliano	0.185	0.093
Sarda	0.204	0.086
Schwäbisch-Hällisches Schwein	0.195	0.129
Swallow-Bellied Mangalitsa	0.195	0.140
Turopolje	0.094	0.199
Italian Duroc	0.162	0.169
Italian Landrace	0.169	0.168
Italian Large White	0.210	0.110
Wild Boar	0.121	0.171

Signatures of selection were detected on 16 chromosomes. Two or more breeds shared 25% (68 of 376) genome windows, with nine genome windows being shared by at least four

breeds. Those windows are located on *Sus scrofa* chromosomes (SSC)1, 4, and 8. The SSC1 region did not harbour any annotated gene; the SSC4 window contained *TMEM67* (Transmembrane protein 67), *PDP* (Pyruvate dehydrogenase phosphatase catalytic subunit 11), and *PLAG1* (*PLAG1* like zinc finger 1) genes known to be involved in the domestication processes in European pig breeds (Yang et al., 2017; Rubin et al., 2012). On SSC8 the identified genomic regions contain *LCORL* (Ligand dependent nuclear receptor corepressor like) and also *MAP8* (Microtubule-associated protein) and *PDGFC* (Platelet-derived growth factor C) genes, already reported to be under selection in pigs (Rubin et al., 2012; Bosse et al., 2015). Other potentially interesting  $F_{ST}$  signals included the *MC1R* and *EDAR* (Ectodysplasin A receptor) genes (affecting hair-related traits; Kijas et al., 1998, Rishikaysh et al., 2014), *ITFG1* (Integrin alpha FG-GAP repeat containing 1) associated with an average daily gain in cattle (Higgins et al., 2018), *NR4A2* (Nuclear receptor subfamily 4 group A member 2; involved in neurogenesis; Larsen et al., 2016), *MC4R* (affecting fat deposition, growth performances and feed intake; Switonski et al., 2013), and *NR6A1* (affecting the number of vertebrae; Mikawa et al., 2007).

Interesting  $F_{ST}$  signals were detected in genome regions containing genes linked to pigmentation: *MC1R* in Black Slavonian pig; *KIT* in Krškopolje, Bisara and Italian Large White; *OCA2* (P protein) in Mora Romagnola and Italian Duroc; and *RBI* (Retinoblastoma protein) in Cinta Senese; but also obesity in pigs: FA Complementation Group *L* (*FANCL*; Clark, 2013) in Krškopolje, Dipeptidyl Peptidase Like 10 (*DPP10*; Hauber and Wegmann, 2009) and Perilipin 1 (*PLINI*; Gandolfi et al., 2011) in Gascon, Nudix hydrolase 6 (*NUDT6*; Sun et al., 2012), Spermatogenesis-Associated Factor Protein (*SPATA5*; Zhang et al., 2018) and Fibroblast growth factor (*FGF2*; Kim et al., 2015) in Swallow-Bellied Mangalitsa, and harbouring *GTF2E1* (General Transcription Factor IIE Subunit 1; Curtis et al., 2015) and *RABL3* (RAB, Member Of RAS Oncogene Family Like 3; Rouillard et al. 2016) genes in Schwäbisch-Hällisches Schwein and Mora Romagnola. In order to obtain a functional overview of breed-specific windows of signatures of selection gene enrichment analysis was performed. The results showed that coat colour is the most important trait that characterises Black Slavonian and Gascon pig breeds. Also, an interesting phenotype related to size/height was identified in Krškopolje, Italian Landrace, Italian Large White, and Sarda pigs.

In order to complete the results obtained by  $F_{ST}$  values per breed, the same parameter was used to compare groups of breeds. Major  $F_{ST}$  peaks were observed in SSC8 regions in or close to the *KIT* gene, with the most important  $F_{ST}$  signal located downstream from the previously identified regions of this gene. This window encompasses several annotated genes but without known functions or those previously described as involved in the coat colour development. Additionally, it was confirmed that SSC15 contains a major signature of selection (including the previously reported *OCA2* gene and several peaks from 53.8. to 58.3 Mb) for the reddish coat colour phenotype in Duroc and Mora Romagnola breeds.

Also, it was confirmed that SSC15 contains a major signature of selection (including the previously reported *OCA2* gene and several peaks from 53.8. to 58.3 Mb) for the reddish coat colour phenotype in Duroc and Mora Romagnola breeds.

When the  $F_{ST}$  of the breed groups was compared based on adult body size, signatures of selection were detected on SSC8, 10, 13, and 15, with the most relevant  $F_{ST}$  peaks detected in genomic regions harbouring or close to the *NCAPG-LCORL* gene, previously reported to be involved in body conformation, birth weight and height in humans and several other wild and domestic animal species (Takasuga, 2016) and *CASP10* (Caspase 10), involved in immune response and apoptosis (Zhang et al., 2020).

Comparative  $F_{ST}$  analyses between commercial and native pig breeds showed selection in genomic windows containing genes related to ear size (Wnt inhibitory factor 1 and LEM domain-containing 3; Liang et al., 201), the number of teats in pigs (Membrane palmitoylated protein 7; Duijvesteijn et al., 2014), ham weight loss at first salting in Italian Large White (Receptor protein-tyrosine kinase; Fontanesi et al., 2017), but also genes (Transmembrane protein 237, C2 calcium dependent domain containing 6, and Membrane palmitoylated protein 4) close to the region that includes *CASP10* gene (Transmembrane protein 237, C2 calcium dependent domain containing 6, and Membrane palmitoylated protein 4).

Comparison between local breeds and wild boars based on  $F_{ST}$  parameter identified selection signatures on SSC1, 7, 8, 13, and 15. The identified genome regions were close to two major genes related to growth (*MC4R*) and the number of vertebrae (*NR6A1*), but also to *TCC6*, *FOXA1* (Forkhead box A1), and *SSTR1* (Somatostatin receptor 1) genes. The genome region on SSC15 contained a *SUPT16H* (SPT16 homolog) gene, which was suggested to be involved in transcriptional suppression during virus infections (Huang et al., 2015).

The selection (both natural and artificial) shaped the genome of livestock species in a way that a broad range of phenotypic variability among them can be observed. The phenotype is shaped by genetic variants spanning from SNPs to more complex structural variants, with copy number variants (CNVs) being one of them. In contrast to single nucleotide polymorphisms (SNPs), which affect only one nucleotide, CNVs are much larger, ranging from one kilobase to several megabases in size (Conrad et al., 2010). Large CNVs may contain genes, resulting in gene duplication or deletion. In order to further examine the origin and potential selection sweep signatures of the European local pig breeds, a dissection of their genome architecture at the CNVs level was performed by Bovo et al. (2020). A total of 9592 CNVs across 21 analysed pig breeds (19 local and 2 modern) were identified. For each breed on average 683 CNVs were identified, covering approximately 0.18% of the reference genome. The smallest proportion of the genome covered was in Sarda pig (0.04%) and the highest in Turopolje pig (0.40%). After merging across breeds a total of 3710 CNV regions (CNVRs) were detected encompassing a total of 34821 genome windows (1.15% of the reference genome), with an average of 77 CNVs per breed considered as private. Clustering of breeds using CNVRs grouped them in agreement with their main specific phenotypes, with a coat colour being the predominant one (Figure 3). The authors argued that most probably this is a result of the strong signals of genome windows encompassing a *KIT* gene that accounts for approximately 15% of the total positive windows for CNVs. Interestingly, the Turopolje pig was the only one that clustered apart from the other breeds (Figure 3).

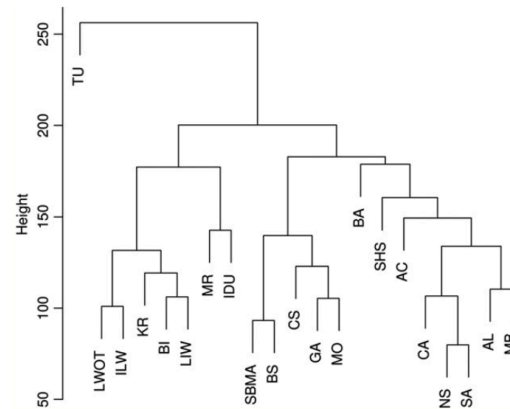


Figure 3. Dendrogram representing the hierarchical clustering of the copy number state (Bovo et al., 2020)

Acronyms of the breeds: Alentejana, AL; Apulo-Calabrese, AC; Basque, BA; Bísara, BI; Black Slavonian, BS; Casertana, CA; Cinta Senese, CS; Gascon, GA; Krškopolje, KR; Lithuanian Indigenous Wattle, LIW; Lithuanian White Old Type, LWOT; Majorcan Black, MB; Mora Romagnola, MR; Moravka, MO; Nero Siciliano, NS; Sarda, SA; Schwäbisch-Hällisches Schwein, SHS; Swallow-Bellied Mangalitsa, SBMA; Turopolje, TU; Italian Duroc, IDU; Italian Large White, ILW.

Additionally, the CNV region covering the *MSRB3* gene associated with ear size (Zhang et al., 2015) was found in most breeds. On the other hand, private CNVRs covering the *ELOVL6* (*ELOVL* fatty acid elongase 6) and *ZNF622* (*Zinc* finger protein 622) genes were detected in the Lithuanian Indigenous Wattle and Turopolje pig breed, respectively.

### Pig genes involved in coronavirus infections and the local breeds

Finally, the variability in several pig genes that can serve as receptors or protease for priming the infection of coronaviruses to establish a “One Health” approach was investigated by Bovo et al. (*in press*).

For these purposes, a dataset consisting of 22 European pig breeds together with wild boars and several Asian pig populations was constructed. Among the 11 variants identified in the *ACE2* (Angiotensin converting enzyme 2) protein, seven (p.Y83F, p.N653, p.S657, p.A658, p.K702, p.R716, and p.P738L) could potentially modify the protein function. Particularly, a novel variant (p.Y83F), identified only in a few autochthonous European breeds (Gascon, Basque, and Bísara) had the potential to change the association between SARS-CoV-2 S-protein and the host receptor. It is worth mentioning that all previous studies that investigated the susceptibility of the pig to SARS-COV-2 did not consider that there might be an intraspecific variability in the *ACE2* receptor, which was in this study found to exist and could represent a potential source of variability in response to infection. Other potential functional variants were detected in the other three proteins.

The results of this study were the first steps towards the insertion of the genomic based conservation and selection programmes as part of the “One Health” approach against coronaviruses.

## Conclusions

Comprehensive genomic research on 20 European local pig breeds showed that these breeds can be distinguished using both SNP microarrays (commercial and custom) and the whole genome sequencing approach. These two approaches enabled deep examination of the genetic singularity together with the genetic connection between investigated local breeds. In many of them low effective population size was observed confirming the need for the establishment or effective improvement of conservation management strategies. Genomic regions connected with signatures of selection were identified, with most of them being found in regions linked to olfactory function, taste, and behaviour. Gene enrichment analyses of breed specific windows of selection signatures showed that most important phenotypic characteristics of the breeds are connected to either coat colour (e.g., Black Slavonian pig) or size/height (e.g., Krškopolje pig). Finally, breed specific variations were found in genes that can serve as receptors or protease for priming the infection of coronaviruses. All these results showed that local pig breeds represent an unexploited treasure and a big genetic reservoir of the *Sus scrofa* species which ensures the biodiversity lost by strong artificial selection in modern pig breeds and hybrids.

## References

- Ayuso M., Fernández A., Núñez Y., Benítez R., Isabel B., Barragán C. (2015). Comparative Analysis of Muscle Transcriptome between Pig Genotypes Identifies Genes and Regulatory Mechanisms Associated to Growth, Fatness and Metabolism. *PLoS ONE* 10(12): e0145162.
- Bosse M., Lopes M. S., Madsen O., Megens H. J., Crooijmans R. P., Frantz L. A., Groenen, M. A. (2015). Artificial selection on introduced Asian haplotypes shaped the genetic architecture in European commercial pigs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1821): 20152019.
- Bovo S., Schiavo G., Ribani A., Utzeri V.J., Taurisano V., Ballan M., Muñoz M., Alves E., Araujo J.P., Bozzi R., Charneca R., Palma F.D., Djurkin Kušec I., Etherington G, Fernandez A.I., García F., García-Casco J., Karolyi D., Gallo M., Martins J.M., Mercat M., Núñez Y., Quintanilla R., Radović Č., Razmaite V., Riquet J., Savić R., Škrlep M., Usai G., Zimmer C., Ovilo C., Fontanesi L. (2021). Describing variability in pig genes involved in coronavirus infections: towards a One Health perspective in conservation of animal genetic resources. *Scientific Reports* (accepted for publication)
- Bovo S., Ribani A., Muñoz M., Alves E., Araujo J. P., Bozzi R., Fontanesi L. (2020). Whole-genome sequencing of European autochthonous and commercial pig breeds allows the detection of signatures of selection for adaptation of genetic resources to different breeding and production systems. *Genetics Selection Evolution*. 52(1): 1-19.
- Bovo S., Ribani A., Muñoz M., Alves E., Araujo J. P., Bozzi R., García F. (2020). Genome-wide detection of copy number variants in European autochthonous and commercial pig breeds by whole-genome sequencing of DNA pools identified breed-characterising copy number states. *Animal Genetics*. 51: 541–556.
- Clark S. J. (2013). The Genetic Mechanisms Underlying Human Obesity. PhD thesis
- Conrad D. F., Pinto D., Redon R., Feuk L., Gokcumen O., Zhang Y., Fitzgerald T. (2010). Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature*. 464(7289): 704-712.
- Curtis D., UK10k Consortium (2016). Practical experience of the application of a weighted burden test to whole exome sequence data for obesity and schizophrenia. *Annals of human genetics*. 80(1): 38-49.
- Čandek-Potokar M. and Škrlep M. (2019). Factors in pig production that impact the quality of dry-cured ham: A review. *Animal*. 6: 327–338.
- Čandek-Potokar M., Batorek Lukač N., Tomažin U., Škrlep M., Nieto R. (2019). Analytical Review of Productive Performance of Local Pig Breeds. In: *European Local Pig Breeds - Diversity*



- and Performance. *A study of project TREASURE*. Candek-Potokar M., and Nieto Linan L.M. (eds.), 160-184. London, United Kingdom, IntechOpen.
- Duijvesteijn N., Veltmaat J.M., Knol E.F., Harlizius B. (2014). High-resolution association mapping of number of teats in pigs reveals regions controlling vertebral development. *BMC genomics*. 15(1): 1-12.
- Franci O., Bozzi R., Pugliese C., Acciaioli A., Campodoni G., Gandini G. (2005). Performance of Cinta Senese pigs and their crosses with Large White. 1 Muscle and subcutaneous fat characteristics. *Meat Science*. 69(3): 545-550.
- Franco D., Vazquez J. A., Lorenzo J. M. (2014). Growth performance, carcass and meat quality of the Celta pig crossbred with Duroc and Landrace genotypes. *Meat Science*. 96(1): 195-202.
- Fontanesi L., Schiavo G., Gallo M., Baiocco C., Galimberti G., Bovo S., Buttazzoni L. (2017). Genome-wide association study for ham weight loss at first salting in Italian Large White pigs: towards the genetic dissection of a key trait for dry-cured ham production. *Animal genetics*. 48(1): 103-107.
- Gandolfi G., Mazzoni M., Zambonelli P., Lalatta-Costerbosa G., Tronca A., Russo V., Davoli R. (2011). Perilipin 1 and perilipin 2 protein localization and gene expression study in skeletal muscles of European cross-breed pigs with different intramuscular fat contents. *Meat science*. 88(4): 631-637.
- Hauber H.P. and Wegmann M. (2009). Obesity and Asthma. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery*. 3(3): 162-172.
- Higgins M.G., Fitzsimons C., McClure M.C., McKenna C., Conroy S., Kenny D.A., McGee M., Waters S.M., Morris D.W. (2018). GWAS and eQTL analysis identifies a SNP associated with both residual feed intake and *GFR2* expression in beef cattle. *Scientific reports*. 8(1): 14301.
- Huang H., Santoso N., Power D., Simpson S., Dieringer M., Miao H. Zhu, J. (2015). FACT proteins, SUPT16H and SSRP1, are transcriptional suppressors of HIV-1 and HTLV-1 that facilitate viral latency. *Journal of Biological Chemistry*. 290(45): 27297-27310.
- Karolyi D., Luković Z., Salajpal K., Škorput D., Vnučec I., Mahnet Ž., Batorek-Lukač N. (2019). Turopolje Pig (Turopoljska Svinja). In: *European Local Pig Breeds - Diversity and Performance. A study of project TREASURE*. Candek-Potokar M., and Nieto Linan L.M. (eds.), 267-277. London, United Kingdom, IntechOpen.
- Kijas J.R., Wales A., Törnsten P., Moller C., Andersson, L. (1998). Melanocortin receptor 1 (*MC1R*) mutations and coat color in pigs. *Genetics*. 150: 1177-1185.
- Kim S., Ahn C., Bong N., Choe S., Lee D. (2015). Biphasic Effects of FGF2 on Adipogenesis. *PloS one*. 10. e0120073. 10.1371/journal.pone.0120073.
- Knap P.W. and Rauw W.M. (2009). Selection for high production in pigs. In: *Resource Allocation Theory Applied to Farm Animal Production*. Rauw W.M. (Ed.s.), 210-229. Wallingford, United Kingdom, CAB International.
- Larsen K., Momeni J., Farajzadeh L., Callesen H., Bendixen C. (2016). Molecular characterization and analysis of the porcine *NURR1* gene. *Biochimie open*. 3: 26-39.
- Liang J., Zhang Y., Wang L., Liu X., Yan H., Wang L., Zhang L. (2019). Molecular cloning of *WIF1* and *HMGA2* reveals ear-preferential expression while uncovering a missense mutation associated with porcine ear size in *WIF1*. *Animal genetics*. 50(2): 157-161.
- Lindskog S., Dunning B. E., Mårtensson H., Ar'Rajab A., Taborsky Jr G. J., Ahren B. (1990). Galanin of the homologous species inhibits insulin secretion in the rat and in the pig. *Acta physiologica scandinavica*. 139(4): 591-596.
- Mikawa S., Morozumi T., Shimanuki S., Hayashi T., Uenishi H., Domukai M., Okumura N., Awata T. (2007). Fine mapping of a swine quantitative trait locus for number of vertebrae and analysis of an orphan nuclear receptor, germ cell nuclear factor (*NR6A1*). *Genome research*. 17(5): 586-593.
- Meuwissen, T. H. (2009). Accuracy of breeding values of 'unrelated' individuals predicted genotyping. *Genetics Selection Evolution* 41, 35.
- Muñoz M., Bozzi R., García F., Núñez Y., Geraci C., Crovetto A., García-Casco J., Alves E., Škrlep M., Charneca R., Martins J.M., Quintanilla R., Tibau J., Kušec G., Djurkin-Kušec I., Mercat M.J., Riquet J., Estellé J., Zimmer C., Razmaite V., Araujo J.P., Radović Č., Savić R., Karolyi

- D., Gallo M., Čandek-Potokar M., Fontanesi L., Fernández A.I., Óvilo C. (2018). Diversity across major and candidate genes in European local pig breeds. *PLoS One*. 13(11): e0207475.
- Muñoz M., Bozzi R., García-Casco J., Núñez Y., Ribani A., Franci O., García F., Škrlep M., Schiavo G., Bovo S., Utzeri V.J., Charneca R., Martins J.M., Quintanilla R., Tibau J., Margeta V., Djurkin-Kušec I., Mercat M.J., Riquet J., Estellé J., Zimmer C., Razmaite V., Araujo J.P., Radović Č., Savić R., Karolyi D., Gallo M., Čandek-Potokar M., Fernández A.I., Fontanesi L., Óvilo C. (2019). Genomic diversity, linkage disequilibrium and selection signatures in European local pig breeds assessed with a high density SNP chip. *Scientific Reports*. 13546.
- Ribani A., Utzeri V.J., Geraci C., Tinarelli S., Djan M., Veličković N., Doneva R., Dall'Olio S., Nanni Costa L., Schiavo G., Bovo S., Usai G., Gallo M., Radović Č., Savić R., Karolyi D., Salajpal K., Gvozdanović K., Djurkin-Kušec I., Škrlep M., Čandek-Potokar M., Ovilo C., Fontanesi L. (2019). Signatures of de-domestication in autochthonous pig breeds and of domestication in wild boar populations from *MC1R* and *NR6A1* allele distribution. *Animal Genetics*. 50(2): 166-171.
- Rishikaysh P., Dev K., Diaz D., Qureshi W.M., Filip S., Mokry J. (2014). Signaling involved in hair follicle morphogenesis and development. *International Journal of Molecular Sciences*. 15(1):1647-70.
- Rouillard A.D., Gundersen G.W., Fernandez N.F., Wang Z., Monteiro C.D., McDermott M.G., Ma'ayan A. (2016). The harmonizome: a collection of processed datasets gathered to serve and mine knowledge about genes and proteins. *Database*. 3: 2016. pii: baw100.
- Rubin C. J., Megens H. J., Barrio A. M., Maqbool K., Sayyab S., Schwochow D., Archibald A. L. (2012). Strong signatures of selection in the domestic pig genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109 (48): 19529-19536.
- Sun L., Yu S., Wang H., Fan B., Liu B. (2012). *NUDT6*, the *FGF-2*'s antisense gene, showed associations with fat deposition related traits in pigs. *Molecular biology reports*. 39(4): 4119-4126.
- Switonski M., Mankowska M., Salamon S. (2013). Family of melanocortin receptor (*MCR*) genes in mammals-mutations, polymorphisms and phenotypic effects. *Journal of applied genetics*. 54(4): 461–472.
- Takasuga A. (2016). *PLAG1* and *NCAPG-LCORL* in livestock. *Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho*, 87(2), 159–167.
- Yang B., Cui L., Perez-Enciso M., Traspov A., Crooijmans R. P., Zinovieva N., Triantafyllidis A. (2017). Genome-wide SNP data unveils the globalization of domesticated pigs. *Genetics Selection Evolution*. 49(1): 71.
- Wang J., Santiago E. Caballero A. (2016). Prediction and estimation of effective population size. *Heredity*. 117: 193–206.
- Zhang Y., Liang J., Zhang L., Wang L., Liu X., Yan H., Wang L. (2015). Porcine methionine sulfoxide reductase B3: molecular cloning, tissue-specific expression profiles, and polymorphisms associated with ear size in *Sus scrofa*. *Journal of animal science and biotechnology*. 6(1): 1-9.
- Zhang X., Cupples L.A., Liu C.T. (2018). A fine-mapping study of central obesity loci incorporating functional annotation and imputation. *European Journal of Human Genetics*. 26: 1369–1377. (2018). <https://doi.org/10.1038/s41431-018-0168-5>
- Zhang Y., Xue L., Xu H., Liang W., Wu Q., Zhang Q., Liu B. (2020). Global Analysis of Alternative Splicing Difference in Peripheral Immune Organs between Tongcheng Pigs and Large White Pigs Artificially Infected with PRRSV *In Vivo*. *BioMed research international*. 2020.

## **Genomska karakterizacija Europskih lokalnih pasmina svinja – što smo naučili od starih pasmina**

### **Sažetak**

U radu se opisuju glavne aktivnosti i rezultati genetskog dijela istraživanja opsežnog multidisciplinarnog projekta „Diversity of local pig breeds and production systems for high quality traditional products and sustainable pork chains (TREASURE)” kojeg je financirala Europska Komisija u okviru Horizont 2020 programa. Istraživanje je provedeno na 20 europskih lokalnih pasmina svinja, od kojih je većina neistražena, osobito u genetskom pogledu. Rezultati genetskih istraživanja pokazali su da su lokalne pasmine svinja uistinu neistraženo blago koje predstavlja veliki genetski rezervoar roda *Sus Scrofa* koji osigurava očuvanje bioraznolikosti u modernih pasmina svinja.

**Ključne riječi:** svinja, autohtona pasmina, SNP čip, sekvenciranje cijelog genoma, raznolikost, konzervacija

## Morphological, biochemical and molecular diversity of *Allium* species cultivated in Croatia

Smiljana Goreta Ban<sup>1,2</sup>, Josipa Perković<sup>1</sup>, Iva Bažon<sup>1,2</sup>, Nikola Major<sup>1</sup>, Mario Franić<sup>1,2</sup>, Igor Lukić<sup>1,2</sup>, Danijela Poljuha<sup>1</sup>, Zlatko Šatović<sup>2,3</sup>, Dean Ban<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Agriculture and Tourism, Karla Huguesa 8, Poreč, Croatia, (smilja@iptpo.hr)*

<sup>2</sup>*Centre of Excellence for Biodiversity and Molecular Plant Breeding, Zagreb, Croatia*

<sup>3</sup>*Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetošimunska 25, Zagreb, Croatia*

### Summary

Species of the genus *Allium* are among the most important vegetables grown all over Croatia and around the world. *Alliums* are highly valued foods of high nutritional value, and due to secondary metabolites they are also used for plant protection through different products based on their bioactive components. In Croatia, there is a significant biological and morphological diversity of cultivated and wild *Alliums*. An extensive program of collecting and characterizing cultivated garlic and shallot was conducted in the past few years at the Institute of Agriculture and Tourism, Poreč. A high morphological, biochemical and molecular variability of the studied species has been determined, which can be used for breeding programs and cultivation.

**Key words:** *Alium sativum* L., *Allium cepa* Aggregatum group, *Allium x cornutum*, bioactive compounds, SSR

### Introduction

Conservation of plant genetic resources, both wild and cultivated, is an important task for scientists since it represents and enables the future of food production sustainability, food security and economic stability, particularly under current climate changes and population growth (FAO 2014).

Plant genetic resources are considered as a valuable source of plant reproductive material for food production, agriculture, plant breeding, research and other purposes connected with the food chain. They are mainly maintained in seed banks or in form of field collections, but other techniques are used as well. Plants which are predominantly propagated clonally or vegetatively either do not produce seeds (bananas, garlic) or the seed would not produce a true type (onion, shallots, potato, apple and other fruits). The conservation of their germplasm is necessary but laborious and is mainly restricted to field ex-situ collections, or to *in vitro* and cryopreservation techniques available for some species (Panis et al., 2020). Field gene banks of international, national, and regional or local importance currently preserve about 400,000 accessions, and most of the clonal plant material is kept in the field *ex-situ* collections (Hawkes et al., 2000).

Collections of germplasm are a source of diversity important for breeding programs. For vegetatively propagated species such as garlic and shallot, characterization of germplasm collections based on their morphology and phytochemical content is important for the identification and selection of clones with superior agronomic, biological, and beneficial health value traits (Bhausal et al., 2019, Barboza et al., 2020). It is considered that variation between vegetatively propagated crops occurs through random mutations and adaptation to various production sites (Hirata et al., 2015, 2016). Local plant material could carry particular properties as a consequence of adaptation to local agro-ecological conditions (Kamenetsky, 2007, Shaaf et al., 2014), and preservation of such material could increase a

pool of biodiversity in the collection. Therefore, it is important to collect, evaluate, and preserve such unique accessions to prevent their rapid loss (Kamenetsky, 2007).

Modern agriculture prefers monocultures and uses just a small fraction of species and cultivars available. Many local landraces have been replaced with higher-yielding cultivars at the cost of adaptability to the environment and germplasm diversity. The loss of local landraces and ecotypes is estimated to 75% of total plant genetic diversity with the disappearance of a diversity of farmers landraces to as high as 90% (Panis et al. 2020).

In the recent years, an effort is allocated towards identification and characterization of local landraces to preserve the genetic structure from erosion, as well as to protect local agronomic production systems by agricultural, biological and chemical multidisciplinary approach (Jump et al., 2009, Siracusa et al., 2013, Ferioli and D'Antuono, 2016). Local landraces of vegetables are well adapted to the climate, resilient and abundant in beneficial bioactive compounds, historically used and available to farmers and consumers and a useful commodity for the local and organic food market. Domesticated cultivars, local landraces, ecotypes, or wild edible hybrids are gaining interest, from both economic and nutritional standpoints. Therefore, the assessment of plant genetic diversity is the basis for agricultural research, breeding programs, and crop improvement (Fowler and Hodgkin, 2004, Govindaraj et al., 2015).

Croatia is one of the richest European countries in terms of biodiversity, with 485 different endemic species of 8582 discovered plant taxa in total (Radović et al., 2006). According to Croatian Plant Genetic Resources Database (CPGRD), at the moment 4233 accessions of cultivated and wild plants are maintained in seed gene banks and *ex-situ* field collections. Generally, there are a higher number of accessions at institutional collections; however, the database is updated only after a detailed morphological description of the accessions. Vegetable crops are present in CPGRD with 310 accessions of which 66 belong to genus *Allium* and 48 of them are garlic (*Allium sativum* L.).

It is well known that significant biological and morphological diversity of cultivated and wild *Allium* species is present in Croatia (Major et al., 2018). At the Institute of Agriculture and Tourism in Poreč, a thorough effort to characterize *Allium* germplasm has been carried out in the past few years. Different tools are utilized with the aim to evaluate in detail the collected accessions on morphological, molecular and biochemical levels. These activities could be crucial for systematization, characterization and further research of the accessions from the collection, ultimately leading to varieties with improved agronomic performance.

Since preservation of genetic diversity of local ecotypes and traditional cultivars has become more important on the global scale, an *Allium* collection at Institute is being continuously expanded. Currently, it consists of 122 Croatian and foreign garlic accessions and 35 accessions of shallot exclusively from Croatia.

Taxonomically, genus *Allium* constitutes of more than 1000 species, and approximately 60 taxonomic groups at subgenera, sectional, and subsectional ranks (Ohri et al., 1998, Fritsch and Friesen, 2002, Friesen et al., 2006, Block, 2010). Plant species from genus *Allium* are currently widely distributed in Europe, Central Asia, North America and India, and show complex morphological diversity (Stearn, 1992).

Onion, *Allium cepa*, is one of the oldest cultivated vegetable and is currently the second most widely cultivated vegetable in the world after tomato (FAOSTAT, 2018). The origin of the

onion is still somewhat a mystery and many botanists doubt the existence of *Allium cepa* as a wild plant (Pike, 1986). Domestication of *Allium* occurred more than 4000 years ago, spread to Egypt, ancient China, and Persia (Fritsch and Friesen, 2002, Ansari, 2007, Gurushidze et al., 2007). Onions are rich in antioxidants, mainly quercetin and its glycosides, and are a major source of dietary flavonoids (Fritsch and Keusgen, 2006, Slimestad et al., 2007). In addition, flavonoids are responsible for the yellow or red color of onions (Ferioli and D'Antuono 2016). Although these health-promoting compounds are ubiquitous in onion bulbs, a detailed chemical profile is required for identification, as the content of specific compounds can vary among *Allium* species or even cultivars (Griffiths et al., 2002, Slimestad et al., 2007, Ferioli and D'Antuono, 2016). The effect of planting density on the quality of 'Istrian purple' and 'Istrian yellow' onions traditionally grown in Istria was tested under field conditions. Flavonoid, anthocyanin and sugar content of both genotypes were less affected by different planting densities than bulb height and diameter. These results suggest that it is possible to adjust planting density of 'Istrian purple' and 'Istrian yellow' onion in order to obtain the targeted size of bulbs without significant changes in bulb quality (Franić et al., 2019).

### Shallot - a minor *Allium* vegetable

Minor *Allium* species are grown sporadically in restricted regions only and were of greater importance back in past (Fritsch and Friesen, 2002). The largest producers of shallots and similar minor *Allium* species are China and Japan, with more than 500,000 tons of shallot bulbs produced per year, followed by New Zealand, Mexico, Iran, Iraq, Cambodia, and Cameroon (FAOSTAT, 2018).

Shallots are no longer considered to be a different species but are classified in the common onion group and belong to *A. cepa* Aggregatum group (Krontal et al., 2000, Fritsch and Friesen, 2002). Shallots in Croatia belong to three genetically and morphologically different, vegetatively reproduced relatives of the common onion, *Allium cepa* L. (Puizina, 2013). They are divided into three genotypes based on vegetative and generative morphological characteristics:

- A. cepa* Aggregatum group ( $2n = 2x = 16$ ),
- A. × proliferum* (Moench) Schard ( $2n = 2x = 16$ ), and
- A. × cornutum* Clementi ex Vis. ( $2n = c 3x = 24$ ).

In Croatia, shallots are propagated by bulbs and cultivated by local farmers and households along the coastal areas of Istria, Kvarner, Dalmatia, and Dalmatian hinterland. Owing to morphological similarities, it is often difficult to distinguish the species in the field, requiring a development of fast and reliable methods for discrimination of landraces to support breeding programs or for commercial exploitation.

In our recent study of shallot accessions collected throughout Croatia we confirmed the proposed differentiation of shallots by Puizina (2013) and concluded that the most important morphological descriptors that separated *A. × cornutum* from *A. × proliferum* and *A. cepa* Aggregatum group were the degree of leaf waxiness, flower number in umbel, stamen morphology, and anther color (Major et al., 2018).

On the other side, local shallot cultivars from Croatia possess excellent nutritional qualities and even exceed commercially developed varieties of onion especially concerning phenolic compounds and minerals (Major et al., 2018). Data in this study showed that *A. × cornutum* was characterized by significantly higher N, Ca, Mg, and Cu content than those in *A. cepa*

Aggregatum, which was not observed for the content of P and K. *A. × proliferum* landrace was characterized by significantly lower Mn content than *A. × cornutum* and *A. cepa* Aggregatum accessions (Major et al., 2018).

The two most abundant phenolic compounds detected in local shallot accessions were quercetin-4'-glucoside and quercetin-3,4'-diglucoside (Major et al., 2018). Based on the quercetin-3,4'-diglucoside levels, local shallot accessions were correctly classified into three groups, *A. × cornutum*, *A. × proliferum*, and *A. cepa* Aggregatum group, suggesting this phenol compound could serve as a genotype marker. Furthermore, *A. cepa* Aggregatum accessions were distinguished from the other groups by the presence of vanillic acid (Major et al., 2018). *A. × cornutum* had the most variable phenolic profile, as seen in the content of quercetin-4'-glucoside, quercetin, chlorogenic acid, and isoquercetin content. These results indicate that local shallot accessions can be discriminated based on their phenolic profiles as well (Major et al., 2018).

Average antioxidant capacities (determined by FRAP and DPPH assay) were comparable between *A. × cornutum* accessions and *A. × proliferum*, but were significantly lower in *A. cepa* Aggregatum group. *A. cepa* Aggregatum group had significantly lower total phenolics content compared to *A. × cornutum* and *A. × proliferum* (Major et al., 2018).

In addition, accessions of shallots from the Institute's shallot collection have been characterized genetically in a broader context of research along with accessions from Czech Republic, Estonia, Finland, Latvia, Lithuania, Norway and Sweden (Ruņģis et al., 2020). Fourteen SSR markers were used for genetic characterization: AMS06, AMS08, AMS10, AMS12, ASM13, AMS14, AMS16, AMS23, AMS30, AMS22 and AMS25 (Fischer and Bachmann, 2000). In this research, accessions of Croatian shallots were differentiated clearly from those from other collections based on discriminant analysis of principal components (DAPC). These results confirmed the genetic separation of Croatian shallot accessions from others included in this wider research and emphasized the value of this shallot collection in terms of diversity and uniqueness not just in a regional, but in a broader context.

### **Morphological and biochemical diversity of Croatian garlic**

Garlic (*Allium sativum* L.) is another important *Allium* crop and its value as a crop has been recognized since ancient times. Beneficial properties of garlic are known in traditional and conventional medicine and pharmacy. It was used for prevention and treatment of various diseases from ancient times to the present-day including Babylonians, Egyptians, Greeks, Romans and Phoenicians cultures (Block, 1985). Therapeutic effects of garlic have been observed including antibacterial, antiviral, anti-diabetic, anti-hypertensive, antioxidant and immune enhancing effects. These health beneficiary effects are attributed to high concentration of organosulfur compounds found in garlic (Augusti and Mathew, 1974, Rahman, 2007, Bayan, Koulivand and Gorji, 2014).

Garlic has been traditionally grown in Croatia for personal use and sale. Some producers have kept local ecotypes along with traditional production practices which resulted in a development of a range of ecotypes adapted to agro-ecological conditions of a particular region. Local varieties are important as ingredients in some traditional products, such as 'Istarski crveni' garlic which is listed in the List of Varieties of the Republic of Croatia as a conservation variety. Due to genotype by environment interactions, significant variability in morphological and genetic characteristics is expected in Croatian garlic collection.

Morphological parameters of some accessions of the Institute's garlic collection were recently described (Prekalj et al., 2019). Ten ecotypes from Istrian peninsula were clustered into two groups; the first group had white to cream color of bulb, white to yellow-brown clove skin color and a higher number of cloves in the bulb. In the second group the accessions had violet clove skin color and the regular structure with two fan groups. It was concluded that geographically closer ecotypes had more similar morphological characteristics.

The above-mentioned accessions from Istria were evaluated for their volatile profile, antioxidant capacity (AOC) and total phenolic content (TPC) (unpublished paper). In the tested accessions, five volatiles were detected using gas chromatography: diallyl sulfide (DAS), methyl allyl disulfide (MADS), diallyl disulfide (DADS), methyl allyl trisulfide (MATS), and diallyl trisulfide (DATS). The total phenolic content (TPC) and antioxidant capacity were evaluated by spectrophotometric techniques and three ecotypes abundant in phenolics also showed the highest antioxidant activity determined by FRAP and DPPH assays. Based on the TPC and AOC, we found that two ecotypes were the most similar, while one ecotype had different volatile profile from all the other accessions tested. The results suggest that the variability in a biochemical characteristic of tested garlic ecotypes is probably attributed to genotype and environmental factors. However, to distinguish their effect further studies has to be conducted.

The recent study of Bažon et al. (2020) was based on the determination of changes of the volatile profile of cv. 'Istarski crveni' during the harvesting period. In total, 17 volatile compounds were determined by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with flame ionization and mass spectrometric detection (HS-SPME-GC-FID-MS). Specific volatiles such as diallyl trisulfide (DATS), diallyl sulfide (DAS), methyl allyl disulfide (MADS) and diallyl disulfide (DADS) represented 98.5% of all the determined compounds and were not affected by harvest date.

Physico-chemical quality parameters were analyzed in two Croatian bolting garlic landraces 'Istarski crveni' and 'Brsečki', known for their reddish clove skin color, smaller number of cloves, and good storage and overwintering survival (Bažon et al. in press). Overall, fifteen sulfur volatiles were determined in the study: allyl mercaptan (AM), methyl allyl sulfide (MAS), dimethyl disulfide (DMDS), hexanal (HEX), diallyl sulfide (DAS), methyl allyl disulfide (MADS), 1-propenyl methyl disulfide (1-PMD), dimethyl trisulfide (DMTS), diallyl disulfide (DADS), metoxymethyl isothiocyanate (MMIC), methyl allyl trisulfide (MATS), 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene (3V4), diallyl trisulfide (DATS), (methylsulfinyl) (methylthylthio) methane (MSMTTM), thieno[2,3-b]thiophene (TT) in both landraces. The amount of AM was higher in 'Istarski crveni' compared to 'Brsečki', whereas an opposite trend was observed for DMTS. Our research showed no influence of landrace on garlic total phenolic content. However, 'Istarski crveni' garlic landrace showed higher antioxidant activity observed by FRAP assay, although not in DPPH assay.

Based on the obtained data, 'Istarski crveni' landrace could be considered more adapted to preserve its quality during handling, storage, and dehydration due to its higher firmness and DM value than 'Brsečki'. On the other hand, 'Brsečki' has larger bulbs and more intense redness explained by higher  $a^*$  color parameter value, which contributes to its more typical red garlic appearance in relation to 'Istarski crveni'. The data obtained in these studies confirmed the presence of high variability in garlic germplasm in our area, as well as the possibility to select ecotypes with desired traits.



## Molecular diversity of garlic collection

Albeit vegetative garlic reproduction, there is a large variability in its physiological, morphological and agronomic traits and a relatively large phenotypic variability can be observed in a small area (Perković et al. 2018, Prekalj et al. 2019). This could be due to differences in genotype, due to environment, or their interaction. Therefore, the use of genetic methods to assess the diversity of plant collections becomes increasingly important in the management of genetic resources within the collections.

Maintaining plant collections is time-consuming and expensive (Keller et al., 2013) and therefore it is necessary to perform intensive agronomic, morphologic and genetic characterization to assess genetic diversity effectively and to perform selection within the collection. A problem in the identification of accessions is the name of local accessions, as several accessions can have the same name but different genotype and vice versa. Genetic fingerprinting can overcome this problem with nomenclature, along with resolving redundancy in the collection while offering an insight into its structure and diversity. It also represents a taxonomic method that is not affected by environmental conditions. Some of the techniques methods routinely used for this purpose are RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), and SSR (Single Sequence Repeats) (Cunha et al., 2012). All these techniques have their advantages and disadvantages. For example, RAPD is relatively cheap and fast, and requires a small amount of DNA, but it cannot distinguish if the amplified DNA is homo- or heterozygous. Limitations of SSR markers are time-consuming and costly development of functional primers and generally low transferability between species. It is imperative to develop DNA markers that are co-dominant, such as SSRs and single nucleotide polymorphisms (SNPs) to improve the density of garlic map. Combining molecular marker studies with traditional procedures used in germplasm research can guarantee reproducible data. For garlic specifically, the number of molecular markers is limited compared to other species. Moreover, due to large and highly repetitive genome of garlic more than two loci per SSR marker can be obtained which infers common duplications (Ipek et al., 2008) and can lead to problems in data analysis and interpretation.

In our recent study, a part of our garlic collection has been genetically evaluated by means of six polymorphic SSR markers. More specifically, 43 accessions from Istria, Dalmatia and continental Croatia (three Croatian regions) and 14 foreign landraces were used for the study (Poljuha et al., 2018). Most of the foreign landraces were obtained through Germplasm Resources Information Network (GRIN). Six SSR markers were chosen from previously published research – GB-ASM-040, GB-ASM-053, GB-ASM-059, GB-ASM-072, GB-ASM-080 (Pérez-Zamora et al., 2004, Ma et al., 2009) and Asa14 (Cunha et al., 2014). Results of this research have shown large variability in the selected garlic accessions. Accessions were grouped into nine diverse groups based on neighbor joining clustering results. Variation among accessions that originated from three Croatian regions was significant (based on AMOVA results). A total of 14 distinct genotypes were found in the accessions from Croatia; however regional structuring was not found.

In more recent research (Poljuha et al., unpublished), a larger part of our garlic collection has been genotyped. Eighty garlic genotypes in total, 64 from three Croatian regions (Dalmatia, Istria, continental Croatia) and 16 from abroad, were genotyped with 13 SSR markers (GB-ASM-040, GB-ASM-053, GB-ASM-059, GB-ASM-072, GB-ASM-080, Asa14, As96, As449, As6389, and As5944). These 13 SSRs produced 71 alleles, which averages to 5.46 alleles per locus. The presence of multiple bands per locus represented a

challenge for SSR data analysis and interpretation. In total, 51 unique genotypes were found. Genetic structure of the collection has shown five major groups which loosely correlate with geographical origin. Almost 90% of molecular variance could be attributed to genetic diversity within the groups of Croatian accessions. These results confirm significant genetic diversity within local populations that could be related to already seen morphological diversity. These two studies are the first reports from an extensive genetic evaluation of garlic genetic resources in Croatia.

### **Conclusion**

The extensive work conducted with the aim to characterize the Institute's collection of local Croatian shallot and garlic landraces contributes to the global vision of conservation of plant genetic resources, which implies a thorough investigation of the morphological, genetic and biochemical variability of the accessions.

Shallot accessions we have collected on the territory of Croatia could be classified into three species, which was confirmed by their biochemical composition and by particular genotyping studies (data not published). Shallot accessions showed great diversity and most of the variability could be addressed to the inter-species diversity. The accessions of Croatian shallots were genetically differentiated not only from other shallot accessions, but they showed superiority in biochemical components, total phenolics and antioxidative activity when compared to commercially available onions and shallots on the market. These findings emphasize the value of the Institute's shallot collection, its quality, diversity and potential for the use in agriculture, food and pharmacy industry.

Through our recent studies on garlic, we have found new unexplored differences in biochemical and morphological parameters of the investigated landraces, which brought new sets of information useful for future breeding programs or commercial production. The unique genotypes found among the Croatian garlic landraces, as well as, particular landraces cultivated worldwide could be structured in five major groups which loosely correlate with geographical origin. This indicates that the identification of accessions with the same names, but different genotype, could be achieved by genetic fingerprinting, which is a method for accessions systematization without the obstacle of environmental influence. The determined variability of the garlic germplasm from Croatia enables selection of ecotypes with desired traits. The results obtained confirmed the high genetic diversity within Croatian garlic accessions from the collection, while its relationship with morphological or biochemical traits is still not fully investigated.

### **Acknowledgement**

This research has been supported by National Program for the Conservation and Sustainable Use of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture Republic of Croatia and by the project KK.01.1.1.01.0005 Biodiversity and Molecular Plant Breeding. The work of PhD student Iva Bažon has been supported by Croatian Science Foundation ESF DOK-2018-01/1.

## References

- Ansari N. A. (2007). Onion cultivation and production in Iran. *Middle Eastern and Russian Journal of Plant Science and Biotechnology*. 1(2): 26–38.
- Augusti K. T. and Mathew P. T. (1974). Lipid lowering effect of allicin (diallyl disulphide-oxide) on long term feeding to normal rats. *Experientia*. 30(5): 468–470.
- Barboza K., Salinas M. C., Acuña C. V., Bannoud F., Beretta V., García-Lampasona S., Burba J. L., Galmarini C. R., Cavagnaro P. F. (2020). Assessment of genetic diversity and population structure in a garlic (*Allium sativum* L.) germplasm collection varying in bulb content of pyruvate, phenolics, and solids. *Scientia Horticulturae*. 261: 108900.
- Bayan L., Koulivand P.H., Gorji A. (2014). Garlic: a review of potential therapeutic effects. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 4(1): 1–14.
- Bažon I., Lukić I., Ban D., Major N., Perković J., Goreta Ban S. (2020). Bolting garlic quality and morphological traits are influenced by scape removal (*Acta Horticulturae*, in press).
- Bažon I., Lukić I., Ban D., Horvat I., Prekalj B., Goreta Ban S. (2020). Volatile compounds of garlic cv. 'Istarski crveni' at different harvesting dates. *Journal of Central European Agriculture*. 21(2): 333-337.
- Bhusal R., Islam S., Khar A., Singh S., Jain N., Tomar B. S. (2019). Diversity analysis and trait association study for antioxidants and quality traits in landraces, farmers' varieties and commercial varieties of Indian short day garlic (*Allium sativum* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 66: 1843–1859.
- Block E. (1985). The chemistry of garlic and onions. *Scientific American*. 252(3): 114–119.
- Block E. (2010). Garlic and other Alliums: the lore and the science. Available from: <http://pubs.rsc.org/en/content/ebook/9781849731805> (Accessed: 8 May 2018).
- da Cunha C.P., Hoogerheide E.S.S., Zucchi M.I., Monteiro M., Pinheiro J.B. (2012). New microsatellite markers for garlic, *Allium sativum* (Alliaceae). *American Journal of Botany*. 99(1): e17–e19.
- da Cunha C.P., Resende F.V., Zucchi M. I., Pinheiro J. B. (2014). SSR-based genetic diversity and structure of garlic accessions from Brazil (2014). *Genetica*. 142(5): 419–431.
- FAO (2014). Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Rev. ed. R. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available from: [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications) (Accessed: 3 December 2020).
- FAOSTAT- Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database (2018). Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (Accessed: 3 December 2020).
- Feroli F. and D'Antuono L.F. (2016). Evaluation of phenolics and cysteine sulfoxides in local onion and shallot germplasm from Italy and Ukraine. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 63(4): 601–614.
- Fischer D. and Bachmann K. (2000). Onion microsatellites for germplasm analysis and their use in assessing intra- and interspecific relatedness within the subgenus *Rhizirideum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 101(1–2): 153–164.
- Fowler C. and Hodgkin T. (2004). Plant genetic resources for food and agriculture: Assessing global availability. *Annual Review of Environment and Resources*. 29(1): 143–179.
- Franić M., Ban D., Perković J., Žnidarčić D., Jukić Špika M., Zlatić E., Goreta Ban S. (2019). Kvaliteta glavice istarskog ljubičastog i žutog luka pri različitim razmacima sadnje. In 54. hrvatski i 14. međunarodni simpozij agronoma - Zbornik sažetaka, Mioč B., Širić I. (eds), 107-108. Zagreb, Croatia: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Fritsch R. M. and Friesen N. (2002). Evolution, domestication and taxonomy. In *Allium crop science: recent advances*, Rabinowitch H. D., Currah L. (ed.), 5–30. Wallingford, United Kingdom: CABI.
- Fritsch R.M., Keusgen M. (2006). Occurrence and taxonomic significance of cysteine sulphoxides in the genus *Allium* L. (Alliaceae). *Phytochemistry*. 67(11) :1127–35.
- Friesen N., Fritsch R.M., Blattner F.R. (2006). Phylogeny and new infrageneric classification of *Allium* L. (Alliaceae) based on nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *Aliso*. 22(1): 372–395.

- Govindaraj M., Vetriventhan M., Srinivasan M. (2015). Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: An overview of its analytical perspectives. *Genetics Research International*. 1–14.
- Griffiths G., Trueman L., Crowther T., Thomas B., Smith B. (2002). Onions - a global benefit to health. *Phytotherapy Research*. 16(7): 603–615.
- Gurushidze M., Mashayekhi S., Blattner F. R., Friesen N. and Fritsch R. M. (2007). Phylogenetic relationships of wild and cultivated species of *Allium* section *Cepa* inferred by nuclear rDNA ITS sequence analysis. *Plant Systematic and Evolution*. 269: 259–269.
- Hawkes J. G., Moxted N., Ford-Lloyd B.V. (2000). Evolution of plants under domestication. The ex situ conservation of plant genetic resources. First edition: 19-31. Available from: <https://www.springer.com/gp/book/9780792364429>
- Hirata S., Abdelrahman M., Yamauchi N., Shigyo M. (2015). Characteristics of chemical components in genetic resources of garlic *Allium sativum* collected from all over the world. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 63(1): 35–45.
- Hirata S., Abdelrahman M., Yamauchi N., Shigyo M. (2016). Diversity evaluation based on morphological, physiological and isozyme variation in genetic resources of garlic (*Allium sativum* L.) collected worldwide. *Genes & Genetic Systems*. 91(3): 161-173.
- International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Rome, Italy; European Cooperative Programme for Crop Genetic Resources Networks (ECP/GR), Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC), Taiwan (2001). Descriptors for *Allium* (*Allium* spp.). Available from: <http://ipgri.cgiar.org> (Accessed: 20 August 2019)
- Ipek M., Ipek A., Simon P.W. (2008). Molecular characterization of Kastamonu garlic: An economically important garlic clone in Turkey. *Scientia Horticulturae*. 115(2): 203–208.
- Jump A. S., Marchant R., Peñuelas J. (2009). Environmental change and the option value of genetic diversity. *Trends in Plant Science*. 14(1): 51–58.
- Kamenetsky R. (2007). Garlic: Botany and Horticulture. In *Horticultural Reviews*, Jules J. (ed.), 123–172. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc
- Keller E. R.J., Zanke C.D., Senula A., Breuing A., Hardeweg B., Winkelmann T. (2013). Comparing costs for different conservation strategies of garlic (*Allium sativum* L.) germplasm in genebanks. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 60(3): 913–926.
- Krontal Y., Kamenetsky R., Rabinowitch H.D. (2000). Flowering physiology and some vegetative traits of short-day shallot: A comparison with bulb onion. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 75(1): 35–41.
- Ma K-H., Kwag J.G., Zhao W., Dixit A., Lee G.A., Kim H.H., Chung I.M., Kim N.S., Lee J.S., Ji J.-J., Kim T.S., Park Y.J. (2009). Isolation and characteristics of eight novel polymorphic microsatellite loci from the genome of garlic (*Allium sativum* L.). *Scientia Horticulturae*: 122(3). 355–361.
- Major N. Goreta Ban S., Urlić B., Ban D., Dumičić G., Perković J. (2018). Morphological and biochemical diversity of shallot landraces preserved along the Croatian coast. 9: 1749. *Frontiers in Plant Science*. 9: 1749.
- Ohri D., Fritsch R. M., Hanelt P. (1998). Evolution of genome size in *Allium* (Alliaceae). *Plant Systematics and Evolution*. 210(1–2): 57–86.
- Panis B., Nagel M., Van den Houwe I. (2020). Challenges and prospects for the conservation of crop genetic resources in field genebanks, in vitro collections and/or in liquid nitrogen. *Plants*. 9(12): 1634.
- Pérez-Zamora O., Cigales-Rivero M.R., Orozco-Santos M., Pérez-Castro K.G. (2004). Soil moisture tension and nitrogen fertilization on cantaloupe melon. Part II. *Agrociencia*. 38: 261–272.
- Perković J., Ban D., Dumičić G., Goreta Ban S. (2018). Flower morphology of shallot accessions from coastal Croatia. In *Zbornik sažetaka 10. Međunarodni kongres oplemenjivanja bilja sjemenarstvo i rasadničarstvo i 5. regionalni dani sjemenara*, Matotan Z., Haramija J. (eds), 98-99. Zagreb, Croatia: Hrvatsko agronomsko društvo.
- Pike L. (1986). Onion breeding. In *Breeding vegetable crops*, Bassett M. (ed.), 357–394. Westport, Connecticut: AVI Publishing Company, Inc.
- Poljuha D., Kralj I., Šatović Z., Ban D., Toth N., Dumičić G., Kereša S., Goreta Ban S. (2018). Assessment of genetic diversity of garlic accessions from Croatia by SSR markers. In 4th

- Congress of Croatian geneticists with international participation, Šarčević H., Ugarković Đ., Vujaklija D., Svetec I. K., Svetec Miklenić M. (eds), 58. . Krk, Croatia: Croatian Genetic Society.
- Prekalj B., Franić M., Ban D., Bažon I., Cvitan D., Goreta Ban S. (2019). Bulb morphological characteristics of garlic ecotypes from Istria. In Proceedings from 54th Croatian & 14th International Symposium on Agriculture, Mioč B., Širić I. (eds), 296. Vodice, Croatia: University of Zagreb, Faculty of Agriculture.
- Puizina J. (2013). Shallots in Croatia - Genetics, morphology and nomenclature. *Acta Botanica Croatica*. 72(2): 387–398.
- State Institute for Nature Protection Biodiversity (2006). Biodiversity of Croatia, Radović J., Čivić K., Topić R. (eds), 4-41. Zagreb, Croatia: State Institute for Nature Protection, Ministry of Culture - Republic of Croatia. Available from: [https://www.vusz.hr/Cms\\_Data/Contents/VSZ/Folders/dokumenti/javanustanovazaupravljanjezasticenimprirodnimvrijednostima/arhiva/~contents/E7X2RXYGCTUYPPPN/2011-3-21-58011335-biodiversityofcroatia.pdf](https://www.vusz.hr/Cms_Data/Contents/VSZ/Folders/dokumenti/javanustanovazaupravljanjezasticenimprirodnimvrijednostima/arhiva/~contents/E7X2RXYGCTUYPPPN/2011-3-21-58011335-biodiversityofcroatia.pdf) (Accessed: 12 November 2020)
- Ruņģis D., Leino M. W., Lepse L., Goreta Ban S., de Vahl E., Annamaa K., Põldma P., Suojala-Ahlfors T., Juškevičienė D., Kik C., Vågen I.M., Stavěliková H. (2020). Genetic characterization of European potato onion (*Allium cepa* var *Aggregatum* G. Don) collections. *Genetic Resources and Crop Evolution*.
- Siracusa L., Avola G., Patanè C., Riggi E., Ruberto G. (2013). Re-evaluation of traditional Mediterranean foods. The local landraces of “Cipolla di Giarratana” (*Allium cepa* L.) and long-storage tomato (*Lycopersicon esculentum* L.): quality traits and polyphenol content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93(14): 3512–3519.
- Shaaf S., Sharma R., Kilian B., Walther A., Özkan, H., Karami E., Mohammadi B. (2014). Genetic structure and eco-geographical adaptation of garlic landraces (*Allium sativum* L.) in Iran. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 61(8): 1565–1580.
- Slimestad R., Fossen T., Vågen I. M. (2007). Onions: A source of unique dietary flavonoids'. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 10067–10080.
- Stearn W. T. (1992). How many species of *Allium* are known?. *Curtis's Botanical Magazine*. 9(4): 180–182.

## Morfološka, biokemijska i molekularna raznolikost vrsta roda *Allium* u Hrvatskoj

### Sažetak

Vrste roda *Allium* spadaju u najvažnije povrće koje se uzgaja u cijeloj Hrvatskoj i širom svijeta. *Allium* vrste su visoko cijenjena hrana visoke hranjive vrijednosti, a zbog sekundarnih metabolita koriste se u zaštiti bilja kao ekološki pripravak. U Hrvatskoj postoji značajna biološka i morfološka raznolikost uzgajanih i divljih *Allium*-a. Opsežni program sakupljanja i karakterizacije češnjaka i ljutike provodi se posljednjih nekoliko godina na Institutu za poljoprivredu i turizam u Poreču. Utvrđena je visoka morfološka, biokemijska i molekularna varijabilnost između ispitivanih vrsta koja se može koristiti za oplemenjivanje i uzgoj.

**Ključne riječi:** *Allium sativum* L., *Allium cepa* Aggregatum group, *Allium x cornutum*, bioaktivni spojevi, SSR

## The challenge of increasing wheat yield and nitrogen use efficiency

Sonja Grljušić, Dario Novoselović

<sup>1</sup>*Agricultural Institute Osijek, Južno predgrađe 17, Osijek, Croatia (Sonja.Grljusic@poljin.hr)*

### Abstract

The challenges facing wheat breeding and production in the coming years are numerous and range from climate changes to profitability. This paper is focused on the issues of wheat yield and nitrogen use efficiency improvement and the research objectives, activities and preliminary outcomes from an ongoing research project “Genetic improvement and optimisation of wheat yield potential“, funded by the Croatian Science Foundation. Some descriptive traits information based on data collected over two consecutive growing seasons is given. The substantial amount of phenotypic and genetic variability among varieties evaluated for key agronomic traits, including those linked to nitrogen use efficiency was observed.

**Key words:** wheat, yield, nitrogen use efficiency, breeding

### Introduction

Today’s agriculture and food systems need to cope with a number of challenges, from capability to meet the needs of a global population that is projected to reach more than 9 billion by mid-century and may extend to more than 11 billion by the end of the century to capability to ensure sustainable use of the natural resources while containing greenhouse gas emissions and mitigating the impact of climate change (FAO, 2017). To combat these challenges, plant breeders need to accelerate breeding by introduction of innovative systems that protect and enhance the natural resource base and improve resilience to climate changes, while increasing productivity (Araus et al., 2008). This paper is focused on the issues of wheat yield and nitrogen use efficiency improvement and the research objectives, activities and preliminary outcomes from an ongoing research project aimed to genetically improve and optimise wheat yield potential.

### Wheat improvement and nitrogen

Wheat (*Triticum aestivum* L.) as a crop that provides about 20% of all calories for the world population (Tyagi et al. 2020), together with the vitamin B, zinc and other compounds abundance is of great importance for human nutrition at the global scale. It is cultivated on more land area than any other commercial crop in the world. However, it was estimated that the current production level of 765 million tonnes annually (FAO, 2019) would not be sufficient by 2050 requirement of around 840 million tonnes of wheat annually (Sharma et al., 2015). As predicted increase in demand for wheat until 2050 is around 1.7 % per year (Rosegrant and Agcaoili, 2010), it becomes difficult to ignore the fact that existing breeding for improved morphology-related traits such as harvest index combined with increased inputs of water and fertilizer will be neither sufficient nor sustainable (Murchie et al., 2009).

In the past century, crop yields were dramatically increased mostly by the application of synthetic nitrogen (N) fertilizer together with the creation of modern crop varieties (Swarbreck et al., 2019). Wheat plants require nitrogen to maintain a photosynthetic activity in order to ensure grain yield and produce grain storage proteins that generally determine end-use quality (Cormier et al., 2016). Thus, availability and uptake of nitrogen is of

immense importance for defining final wheat yield and grain quality (Barraclough et al., 2014).

Nevertheless, there are number of evidence that fertilizer use has already reached critical environmental limits. Nitrogen cycle was altered causing possible heavy impacts on biodiversity, global warming, water quality and human health. Plants, dependent on soil type and plant species take up less than half of the applied N fertilizer (Raun and Johnson, 1999, Kumar and Goh, 2002). Therefore, the synchronization of N supply with crop demand seems to be the key N management technology for sustainable and profitable crop production (Cassman et al., 2002).

A possible solution to arrive at sustainable N management may be found in improved nitrogen use efficiency (NUE) (Abrol et al., 2012). It was estimated that the global nitrogen use efficiency for cereal production is only about 33% (Naser et al., 2020). Therefore, to simultaneously increase cereal yields while maintaining, or preferably decreasing, applied nitrogen, the NUE of crops should be maximized (Han et al., 2015). Hawkesford et al. (2013) suggested multidisciplinary integrated approach to increase and protect yield potential, and increase resource use efficiency.

### **Wheat nitrogen use efficiency improvement**

Maintaining wheat productivity while reducing N application and improving NUE will enable farmers to increase profitability of production and reduce environmental pollution associated with the nitrogen loss (Brasier et al., 2020). Hence, it is a great challenge for breeders to develop new cereal varieties not only with improved yield, higher tolerance to abiotic/biotic stresses, decreased lodging and/or higher grain quality, but also with a higher NUE, without producing N deficiency and/or yield penalty (Kichey et al., 2007, Kant and Rothstein, 2011).

NUE in wheat is associated with processes of nitrogen uptake and assimilation and remobilisation. It comprises three key components: the nitrogen uptake efficiency (NUpE), the nitrogen utilisation efficiency (NUtE), and the nitrogen harvest index (NHI). For each of these components a lot of underlying physiological mechanisms and complex traits are relevant (Lammerts van Bueren and Struik, 2017). NUpE, as the ratio of N absorbed and N available in soil is a root related trait, and therefore affected by the root architecture and functionality. On the other hand, as NUtE represent the efficiency of N assimilation and remobilisation to produce grain, and NHI ratio of nutrient in harvested grain and total biomass, both components are affected by the factors such as photosynthetic activity per se, architecture and ability to capture light, and longevity of the plant for active photosynthesis (Hawkesford, 2012).

In conventional breeding, the genetic variability for morpho-physiological traits related to NUE and yield has become an increasingly important issue. However, it is still unknown to what extent variation for NUE exists in modern wheat varieties. Han et al. (2015) reported on significant amount of genetic variation and phenotypic plasticity for NUE, but also pointed out considerable influence of water availability, soil properties, method of NUE measurement, level of N fertilizer applied and genotype tested. A large amount of genetic variability for NUE of Indian spring wheat genotypes and its component traits as well as additive and nonadditive gene action in inheritance of NUE was reported by Ranjan and Yadav (2020). Hawkesford (2017) found variation amongst modern germplasm, but

emphasized that significant improvement will only be achieved through screening more diverse germplasm material with greater levels of trait variation.

NUE is a complex trait determined by multiple characteristics, and its improvement includes modification of more than one component. Foulkes et al. (2009) indicated that increased root length density at depth and high capacity for N accumulation in the stem are potentially associated with high maximum N uptake rate, while more efficient post-anthesis remobilization of N from stems to grain, but less efficient remobilization of N from leaves to grain are potentially associated with delayed senescence. Traits as plant height and flowering date are also reported to be strongly genetically correlated with NUE traits (Guttieri et al., 2017). Furthermore, NUE is highly determined not only by the multiple interacting genes, but also by the number of environmental factors (Xu et al., 2012). Therefore, strategies to improve NUE involve germplasm improvement as well as optimised agronomy adapted to environment (Hawkesford and Riche, 2020).

Most of the modern wheat varieties were developed under conditions of high soil fertility and the information defining specific N requirements of each variety are lacking (Swarbreck et al., 2019). As genotypes perform differently under different N conditions, in order to achieve NUE improvement increased knowledge on genotype response to high and low N levels as well as to other environmental conditions is required (Ortiz Monasterio et al. 1997, Tyagi et al., 2020). As was pointed out by Hirel et al. (2007) knowledge on genotype response to variegated N levels also enables development of whole-plant physiological studies and together with gene, protein, and metabolite profiling allows to conceptualize a different steps of nitrogen uptake, assimilation, and recycling to the final deposition in the seed.

### **Project objectives**

The main objectives of the research project “Genetic improvement and optimization of wheat yield potential”, funded by the Croatian Science Foundation were: (I) to phenotypically and genotypically characterize domestic and foreign elite breeding material for NUE traits, grain yield and yield components, grain quality and Fusarium head blight tolerance, (II) to analyse selected wheat germplasm for functional markers, (III) to identify wheat ideotypes in order to help breeders to select parents, identify possible progenies for varietal testing and optimize wheat traits in relation to NUE, quality and yield potential under different agro-ecological conditions of South-Eastern Europe, (IV) to develop a modelling strategy for genotype-by-environment interaction analysis that will help to increase the efficiency of a plant breeding program, and (V) to identify superior wheat genotypes which might be used as a mapping and breeding populations for future research and breeding.

### **Experimental**

Sixty-four domestic and foreign winter wheat varieties provided the basic material for the research. After two years of investigation, 16 varieties were selected for further analyses.

Field experiments were conducted at three distinct agro-ecological locations in Croatia (Osijek, Zagreb, and Poreč). The trials were arranged in randomised complete block design with three replications and in the last two years as incomplete block design.

In 2016/2017 and 2017/2018 seasons varieties were tested at two levels of nitrogen (N) fertilization (control – 0 kg ha<sup>-1</sup> of N, and high level (HL) – 100 kg ha<sup>-1</sup> of top dressed N).



During the 2018/19 and 2019/20 seasons selected varieties were top dressed using four different N rates (0, 25, 50, and 100 kg ha<sup>-1</sup>).

During the first two years of research 1152 plots per year (64 varieties×3 replications×3 locations×2 N levels) were sampled twice (samples of above-ground biomass at the flowering stage (GS63-65) and samples of straw and grain at stage of full maturity (GS92)) to analyse N content (4608 samples in total -1152 plots×2 growth stages×2 years). Grain yield per plot, dry matter content of above-ground biomass, harvest index, plant height, thousand kernel weight, and grain protein content were measured after the plot harvest in each of two years (2304 measurements in total -1152 plots×2 years).

To analyse N content in 2018/2019 and 2019/2020 seasons varieties were sampled in the flowering (samples of above-ground biomass) and full maturity (samples of straw and grain) stages at each plot and year (2304 samples in total -16 varieties×3 replications×3 locations×4 N levels×2 growth stages×2 years). Grain yield per plot, dry matter content of above-ground biomass, harvest index, plant height, thousand kernel weight, and grain protein content were measured after the harvest of 576 plots (16 varieties×3 replications×3 locations×4 N levels) in each year (1152 measurements in total - 16 varieties×3 replications×3 locations×4 N levels×2 years).

Representative grain samples of each variety plot repetitions across the all the years were analysed according to the standard AACC and ICC procedures for the following wheat grain quality traits: sedimentation value, wet gluten content, gluten index and Hagberg falling number. Fractions of protein gluten components (gliadin and glutenin) were determined for the selected varieties from Osijek and Zagreb locations.

In order to indirectly determine N content of above-ground biomass during the growth season GreenSeeker hand-held device (Trimble Inc., USA) was used to measure normalized difference vegetation index (NDVI) at all three locations at each plot for all four seasons. Photochemical reflectance index (PRI) and plant senescence reflectance index (PSRI) were determined only at Osijek location. In total, over 10000 measurements of plots were done to determine NDVI, and 11620 leaves were analysed for PRI and PSRI.

During the first two years of investigation after artificial inoculation by *Fusarium* spp. tolerance of varieties was evaluated at Osijek and Zagreb locations. In total, 4608 rankings were done at field and 512 analyses of infestations in laboratory. In the 2018/2019 and 2019/2020 seasons 1280 rankings in total of varieties *Fusarium* tolerance was done at Osijek location. The amount of reactive oxygen species (ROS) enzyme was assessed from 8448 tissues of selected samples.

The morphometric traits of seeds were analysed by digital record analysis and device MARVIN (GTA Sensorik GmbH, Germany). Seed samples were taken at Osijek and Zagreb locations in the first two years of investigation. 2D and 3D parameters were assessed, and data on length, width and surface area of 51200 seeds were recorded.

The list, description and formulae of traits shown here are given in Table 1.

Table 1. List, description and formulae for analysed traits

Trait	Unit	Description	Formula
GY	kg DM ha <sup>-1</sup>	Grain yield (grain dry matter) per area	
PH	cm	Plant height	
GPC	%	Grain protein content	
GNY	kg N ha <sup>-1</sup>	Grain N yield	$[GPC / (5.7 \times 100)] \times GY$
NTA	kg N ha <sup>-1</sup>	Total aboveground N per area at maturity	
NTAmax	kg N ha <sup>-1</sup>	Maximal N per area	95th percentile of NTA per trial
HI	%	Harvest index	$[GY / (GY + \text{Above-ground straw dry matter per area at maturity})] \times 100$
NHI	%	N harvest index	$(GNY / NTA) \times 100$
NUE	kg DM kg <sup>-1</sup> N	N use efficiency	$GY / \text{NTAmax}$
NU <sub>p</sub> E	%	N uptake efficiency at maturity	$(NTA / \text{NTAmax}) \times 100$
NU <sub>t</sub> E	kg DM kg <sup>-1</sup> N	N utilization efficiency	$GY / NTA$

## Conclusion

The biggest challenge facing plant breeding today is development of higher-yielding plants that are more nutritious, use water and nutrients more efficiently, and can tolerate more variation in the environment. Preliminary results of this project suggest that conventional wheat breeding with data generated by field experiments, genomics, proteomics and metabolomics still offers a great opportunity to create conventional varieties with significantly improved yield, quality and nitrogen use efficiency.

## Acknowledgements

This paper is an output of research project „Genetic improvement and optimisation of wheat yield potential“ funded by the Croatian Science Foundation (grant No. 2016-06-2178). Twenty-two team members of the project are employees of five domestic research institutions (two public institutes - Agricultural Institute Osijek and Institute of Agriculture and Tourism Poreč, one private institute – Bc Institute for Breeding and Seed Production of Field Crops Zagreb, two faculties –Faculty of Agriculture, University of Zagreb and Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University J.J. Strossmayer of Osijek), and research institute from abroad (NIAB, Cambridge).

## References

- Abrol Y.P., Pandey R., N. Raghuram N., Ahmad A. (2012). Nitrogen cycle sustainability and sustainable technologies for nitrogen fertilizer and energy management. *Journal of the Indian Institute of Science*. Vol. 92 (1): 17-36.
- Araus J.L., Slafer G.A., Royo C., Serret D. (2008). Breeding for yield potential and stress adaptation in cereals. *Critical Reviews in Plant Science*. Vol. 27 (6): 377-412.
- Barraclough P.B, Lopez-Bellido R., Hawkesford M.J. (2014). Genotypic variation in the uptake, partitioning and remobilisation of nitrogen during grain filling in wheat. *Field Crops Research*. Vol.156 (1): 242-248.
- Brasier K., Ward B., Smith J., Seago J., Oakes J., Balota M., Davis P., Fountain M., Brown-Guedira G., Sneller C., Thomason W., Griffey C (2020). Identification of quantitative trait loci associated

- with nitrogen use efficiency in winter wheat. *Plos One*. Vol. 15 (2): doi.10.137/journal.pone.0228775
- Cassman K.G., Dobermann A., Walters D.T. (2002). Agroecosystems, nitrogen-use efficiency, and nitrogen management. *Ambio*. Vol. 31 (2): 132-140.
- Cormier F., Foulkes J., Hirel B., Gouache D., Moëne-Loccoz Y., Le Gouis J. (2016). Breeding for increased nitrogen-use efficiency: a review for wheat (*T. aestivum* L.). *Plant Breeding*. Vol. 135: 255-278.
- FAO (2017). The future of food and agriculture - Trends and challenges. Rome, pp.5.
- FAO (2019). FAOSTAT Database. Rome, retrieved May 3, 2021 from <http://fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Foulkes M.J., Hawkesford M.J., Barraclough P.B., Holdsworth M.J, Kerr S., Kightley S., Shewry P.R. (2009). Identifying traits to improve the nitrogen economy of wheat: Recent advances and future prospects. *Field Crops Research*. Vol. 114 (3): 329-342.
- Gutteri M.J., Frels K., Regassa T., Waters B.M., Baenziger P.S. (2017). Variation for nitrogen use efficiency traits in current and historical great plains hard winter wheat. *Euphytica*. 213 (87): <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1869-5>
- Han M., Okamoto M., Beatty P.H., Rothstein S.J., Good A.G. (2015). The genetics of nitrogen use efficiency in crop plants. *Annual Review of Genetics*. Vol. 49: 269-289.
- Hawkesford M.J. (2012). Improving nutrient use efficiency in crops. In: eLS John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. doi: 10.1002/9780470015902.a0023734
- Hawkesford M.J., Araus J.L., Park R., Calderini D., Miralles D., Shen T., Zhang J, Parry M.A. (2013). Prospects of doubling global wheat yields. *Food and Energy Security*. Vol. 2(1): 34–48.
- Hawkesford M.J. (2017). Genetic variation in traits for nitrogen use efficiency in wheat. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 68 (10): 2627-2632
- Hawkesford M.J., and Riche A. (2020). Impacts of GxExM on nitrogen use efficiency in wheat and future prospects. *Frontiers in Plant Science*. Vol. 11: doi.10.3389/fpls.2020.01157
- Hirel B., Le Gouis J., Ney B., Gallais A. (2007). The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 58 (9): 2369-2387.
- Kant S., Bi Y.M., and Rothstein S.J. (2011). Understanding plant response to nitrogen limitation for the improvement of crop nitrogen use efficiency. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 62 (4): 1499–1509.
- Kichey T., Hirel B., Heumez E., Dubois F., Le Gouis J. (2007). In winter wheat (*Triticum aestivum* L.) post-anthesis nitrogen uptake and remobilisation to the grain correlates with agronomic traits and nitrogen physiological markers. *Field Crops Research*, Vol. 102: 22-32.
- Kumar K., and Goh K. (2002). Recovery of <sup>15</sup>N-labelled fertilizer applied to winter wheat and perennial ryegrass crops and residual <sup>15</sup>N recovery by succeeding wheat crops under different crop residue management practices. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. Vol. 62: 123–130.
- Lammerts van Bueren E.T., and Struik P.C. (2017). Diverse concepts of breeding for nitrogen use efficiency. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. Vol.37(50): <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0457-3>.
- Murchie E., Pinto M., Horton P. (2009). Agriculture and the new challenges for photosynthesis research. *New Phytologist*. Vol. 181 (3): 532-552.
- Naser M.A., Khosla R., Longchamps L, Dahal S. (2020). Characterizing variation in nitrogen use efficiency in wheat genotypes using proximal canopy sensing for sustainable wheat production. *Agronomy-Basel*. Vol. 10 (6): doi: 10.3390/agronomy10060773.
- Ortiz-Monasterio J.I., Sayre K.D., Rajaram S., McMahon M. (1997). Genetic Progress in Wheat Yield and Nitrogen Use Efficiency under Four Nitrogen Rates. *Crop Science*. Vol. 37 (3): 898-904.
- Ranjan R., and Yadav R. (2020). Genetic analysis of nitrogen use efficiency component traits under nitrogen-limiting environment. *Cereal Research Communications*. Vol. 48: 431-439.
- Raun W., and Johnson G. (1999). Improving nitrogen use efficiency for cereal production. *Agronomy Journal* 91: 357–363.
- Rosegrant M.W., and Agcaoili, M. (2010). Global food demand, supply, and price prospects to 2010. International Food Policy Research Institute, Washington, D.C.

- Sharma I., Tyagi B., Singh G., Venkatesh K, Gupta O.P (2015). Enhancing wheat production - a global perspective. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. Vol. 85 (1): 3-13.
- Swarbreck S.M., Wang M., Wang Y., Kindred D., Sylvester-Bradley R., Shi W., Singh V., Bentley A.R., Griffiths H. (2019). A roadmap for lowering crop nitrogen requirement. *Trends in Plant Science*. Vol. 24 (10): 892-904.
- Tyagi B.S., Foulkes J., Singh G., Sareen S., Kumar P., Broadley M.R., Gupta V., Krishnappa G., Ojha A., Khokhar J.S., King I.P., Pratap Singh G. (2020). Identification of wheat cultivars for low nitrogen tolerance using multivariable screening approaches. *Agronomy*. Vol. 10 (3): doi:10.3390/agronomy1003040417.
- Xu G., Fan X., Miller A.J. (2012). Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual Review of Plant Biology*. Vol. 63: 153-182.

## **Izazov u povećanju uroda pšenice i učinkovitosti usvajanja dušika**

### **Sažetak**

U nadolazećim godinama izazovi u oplemenjivanju i proizvodnji pšenice postaju sve brojniji i u rasponu su od klimatskih promjena do profitabilnosti. Ovaj rad je usmjeren na pitanja poboljšanja prinosa pšenice i učinkovitosti korištenja dušika te prikazuje istraživačke ciljeve, aktivnosti i preliminarne ishode istraživačkog projekta u izvedbi “Genetsko poboljšanje i optimizacija potencijala rodnosti pšenice”, financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost. Prikazane su osnovne informacije o svojstvima bazirane na podacima prikupljenim tijekom četiri uzastopne sezone. Utvrđeno je postojanje fenotipske i genetske varijabilnosti ispitivanih sorti za ključna agronomska svojstva, uključivo za svojstva vezana uz učinkovitost korištenja dušika.

**Ključne riječi:** ozima pšenica, prinos, učinkovitost korištenja dušika, oplemenjivanje

## Prednosti i izazovi u proizvodnji svinjskog mesa od nekastriranih muških svinja i imunokastrata

Danijel Karolyi<sup>1</sup>, Goran Kušec<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (dkarolyi@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska*

### Sažetak

Proizvodnja nekastriranih muških svinja i imunokastrata, kao alternativa kirurškoj kastraciji muških odojaka, rezultirala je brojnim novim izazovima u svinjogojskoj proizvodnji. Novi momenti u proizvodnji vezani su prvenstveno uz otkrivanje i smanjenje pojave neugodnog mirisa i okusa mesa koja se javlja u nekih nekastriranih mužjaka (tzv. nerastovsko svojstvo), smanjenje agresije i pitanje dobrobiti životinja, specifične hranidbene potrebe i uvjete držanja, kvalitetu trupova i mesa, te potrošačku prihvatljivost. U radu su predstavljene najvažnije prednosti i nedostaci u proizvodnji svinjskog mesa s nekastriranim muškim svinjama i imunokastratima, kao i neka praktična rješenja i preporuke.

**Ključne riječi:** svinje, nerastovsko svojstvo, kirurška kastracija, proizvodnja nerasta, imunokastracija

### Uvod

Kirurška kastracija bez ublažavanja bola muških odojaka za tov u prvom tjednu života uobičajena je praksa kojom se smanjuje agresivno ponašanje, olakšava upravljanje životinjama i sprječava pojava tzv. nerastovskog svojstva (engl. *boar taint*), jakog i neugodnog mirisa i okusa po urinu/izmetu koji se oslobađa zagrijavanjem ili kuhanjem mesa pojedinih nekastriranih mužjaka i izaziva odbijanje potrošača (Bonneau i sur., 2000., Fonti-Furnols, 2012., Aaslyng i sur., 2016.). Manje povoljni aspekti kirurške kastracije uključuju troškove provedbe operativnog zahvata, veći utrošak hrane i ekskreciju dušika po grlu te jače nakupljanje masti u polovicama kastrata (Bonneau i Weiler, 2019.). Zbog akutne boli i stresa, kao i mogućih post-operativnih komplikacija koje prate kiruršku kastraciju ova se praksa smatra problematičnom i sa stajališta dobrobiti životinja (Von Borell i sur., 2009.), zbog čega su je snažno osporile organizacije za zaštitu životinja u više europskih zemalja a pojedine, poput Švicarske i nekih skandinavskih država (Norveška, Švedska) zabranile su zahvat bez ublažavanja bola (Bee i sur., 2015.). To je moguće postići sprječavanjem bola tijekom operacije uporabom lokalne (npr. injekcija lidokaina) ili opće anestezije (npr. inhalacija CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>, isoflurana, halotana ili injekcija ketamina) i/ili olakšavanjem post-operativnih bolova primjenom ne-steroidnih protu-upalnih analgetika (npr. Meloxicam) ili derivata pirazolona (npr. Metamizol). Međutim, kako ovakav pristup zahtjeva dodatni rad i troškove, a na razini Europske unije (EU) ne postoji obveza upotrebe anestezije i/ili analgezije pri kastraciji odojaka mlađih od jednog tjedna (EU Direktiva 2008./120/EZ), zahvat se najčešće provodi bez ikakve kontrole boli. Operacija, koju izvodi veterinar ili osposobljena osoba uobičajeno uključuje imobilizaciju životinje, resekciju skrotuma skalpelom i odvajanje testisa uz presijecanje sjemenovoda, nakon čega slijedi aplikacija antiseptika na otvorenu ranu i vraćanje odojka u boks (Prunier i sur., 2006.). Nakon operacije sisanje odojaka može biti umanjeno a povećani rizik od infekcije tijekom zarastanja rane i pada imuniteta mogu povisiti mortalitet do odbića (Prunier i sur., 2006., Morales i sur., 2017.). Osim toga, postupak kirurške kastracije vrlo je bolan kada se primjenjuje bez

ublažavanja bola (Marchant-Forde i sur., 2009.), zbog čega se već godinama susreće s kritikama u javnosti (EFSA, 2004.).

Uzevši navedeno u obzir nakon usvajanja direktive br. 2008/120/EZ o utvrđivanju minimalnih standarda za uzgoj svinja, zemlje članice EU dobrovoljno su se obvezale prestati s ovakvom praksom do 2018. godine, pod uvjetom da se pronađu zadovoljavajuća alternativna rješenja (Europska Komisija, 2010.). Kao najizglednije alternative najčešće se navode kastracija uz anesteziju i/ili produljenu analgeziju, tov nekastriranih muških svinja (nerasta) i imunokastracija, koja predstavlja postupak imunizacije protiv gonadotropin oslobađajućeg hormona (engl. *gonadotropin-releasing hormone* - GnRH) zaduženog za regulaciju testikularnih funkcija mužjaka (Thompson, 2000.), čime se sprječava pojava nerastovskog svojstva. Međutim, kako ni jedna od dostupnih alternativa nije u potpunosti zadovoljavajuća, rok je sada produžen za još nekoliko godina a rasprava o pitanju kirurške kastracije i uvođenju alternativnih rješenja među zemljama članicama traje i dalje.

Cilj ovoga rada stoga je dati pregled trenutne situacije glede proizvodnje muških svinja u EU, te najvažnijih prednosti i prepreka, kao i nekih praktičnih rješenja u proizvodnji nekastriranih muških svinja i imunokastrata kao mogućih alternativa kirurškoj kastraciji muških odojaka.

### **Sustavi proizvodnje muških svinja u EU**

Trenutni sustavi proizvodnje muških svinja u EU razlikuju se između, pa čak i unutar pojedinih zemalja. Procjenjuje se da je oko 75 % muških svinja u EU još uvijek kirurški kastrirano (Bonneau i Weiler, 2019.). Anкета koju je nedavno provela Federacija veterinarara Europe zajedno s Europskom komisijom u 24 europske zemlje pokazala je da se kod više od polovine kirurški kastriranih odojaka zahvat i dalje provodi bez ikakve kontrole boli, dok je kastracija uz primjenu analgezije zastupljena 41 %, a uz primjenu anestezije i analgezije svega 5 % (De Briyne i sur., 2016.). Proizvodnja nekastriranih muških svinja, koja je već dugo konvencionalna na Britanskim otocima (>90 % muške prasadi u Irskoj i Ujedinjenom Kraljevstvu uzgaja se bez kastriranja), zadnjih je 15-tak godina postala sve standardnija praksa i u drugim područjima Europe. Primjerice Španjolska, Portugal, Grčka i Nizozemska uzgajaju i kolju već >60 % svojih muških svinja kao mlade neraste (Bee i sur., 2015.), dok je u Njemačkoj i Francuskoj taj udio već dosegao oko 20%, a u Belgiji oko 15 % (Bonneau i Weiler, 2019.). Imunokastracija značajniju primjenu za sada ima jedino u Belgiji, gdje se koristi na oko 15 % muške prasadi, dok se kod ostalih zemalja u manjoj mjeri (<10 %) koristi u Švedskoj, Poljskoj, Češkoj, Slovačkoj, Rumunjskoj, Italiji i Španjolskoj (Bonneau i Weiler, 2019.). S druge strane, neke članice, posebno u istočnoj Europi gdje većina dionika u lance proizvodnje svinjskog mesa smatra da kirurška kastracija muških svinja bez kontrole boli ne predstavlja problem (Bonneau i Weiler, 2019.), ili su poput Italije tradicionalno usmjerene na proizvodnju težih i starijih svinja (De Roest i sur., 2009.), nisu značajnije mijenjale dosadašnju praksu.

### **Prednosti i nedostaci proizvodnje nekastriranih muških svinja (nerasta)**

Obustava kastracije i proizvodnja svinjetine podrijetlom od nekastriranih mužjaka ima niz prednosti, npr. u pogledu dobrobiti (nema bolova izazvanih kastracijom), ekonomike (bolja konverzija hrane i prirast mesa, nema troškova rada i gubitaka vezanih na kastraciju) i očuvanja okoliša (za 15-20 % niža ekskrecija dušika u odnosu na kastrate) (von Borell i sur. 2020., Bonneau i Weiler, 2019., Squires i sur., 2020.). Većina je ovih prednosti metaboličke prirode i rezultat djelovanja spolnih hormona koje je s izostankom kastracije održano. Kod

cjelovitih mužjaka zbog povećanja koncentracije androgena i estrogena tijekom pubertetskog razvoja, potencijal rasta koji je ovisan o spolnim hormonima (Claus i Weiler, 1994.) je povećan i favorizira razvoj mišićnog na račun masnog tkiva u polovicama (Batorek i sur., 2012a.). Istodobno unos hrane je umanjen djelovanjem gonadnih hormona što rezultira povećanom hranidbenom učinkovitosti nerasta (Bonneau, 1998.). Procjenjuje se da izostanak kastracije povećava prirast za 13 %, prinos mesa za 20 %, iskorištavanje hrane za 14%, a smanjuje utrošak hrane za 9,5 % (Squires i sur., 2020.), što u konačnici rezultira smanjenim proizvodnim troškovima i većom dobiti u odnosu na standardnu proizvodnju kastrata. Primjerice, vrijednost bolje konverzije procijenjena je na 7,11 € po svinji (Europska Komisija, 2019.). Zbog bržeg rasta, veće retencije dušika i efikasnijeg iskorištavanje hrane cjelovitih mužjaka tov nerasta je i ekološki održiviji uslijed reduciranih troškova energije i hrane, manje proizvodnje krme i uporabe poljoprivrednog zemljišta, smanjene produkcije stajskog gnoja te u konačnici niže emisije stakleničkih plinova (Dämmgen i sur., 2013.).

Nedostaci u proizvodnji nekastriranih muških svinja uglavnom se povezuju uz veću aktivnost i agresivnost nerasta uz pojavu seksualno motiviranog ponašanja, koji mogu uzrokovati češće probleme s ozljedama, npr. ekstremiteta i papaka, ozljede penisa, itd. i dobrobiti (npr. kod životinja koje uznemiruju dominantniji pripadnici boksa) (Bonneau i Weiler, 2019., Squires i sur., 2020.). K tome treba pridodati i više pitanja vezanih uz kvalitetu mesa i masti nekastriranih muških svinja, koja negativno utječu na meso namijenjeno za potrošnju u svježem obliku ili (još uočljivije) umanjuju preradbenu sposobnost takvog mesa, posebno u slučaju suhomesnatih proizvoda. Glavni kvalitativni nedostaci vezani su uz niži sadržaj i viši stupanj nezasićenosti tjelesnih masti što, uz slabiji kapacitet vezanja vode u mesu, dovodi do toga da je meso nerasta često tvrđe, a mast mekša u usporedbi sa ostalim spolnim kategorijama (Lundström i sur., 2009., Škrlep i sur., 2020.). Zbog veće fizičke aktivnosti nerasta i stresnog okruženja (kod svinja izloženih agresiji i seksualnom uznemiravanju) moguća su veća odstupanja u boji i pH vrijednosti mesa (Škrlep i sur., 2020.). Konačno, budući da je kastracija prvenstveno namijenjena sprječavanju pojave nerastovskog svojstva, proizvodnja nerasta ima za posljedicu mogućnost njegove pojave (Weiler i Wesoly, 2012.), što je i najveći problem u proizvodnji svinjetine s nekastriranim muškim svinjama. Smanjena prihvatljivosti mesa nerasta od strane tržišta i dodatni troškovi vezani uz otkrivanje nerastovskog svojstva na liniji klanja uz potrebu prerade zahvaćenog mesa u proizvode niže vrijednosti, i dalje su najčešće glavna prepreka uvođenju ove alternative u sustave proizvodnje muških svinja u mnogim zemljama.

Nerastovsko svojstvo karakterizira pojava odbojnog mirisa i okusa koji se osjeća prilikom kuhanja i jedenja mesa nekastriranih muških svinja, što predstavlja ozbiljan rizik za zadovoljstvo potrošača (Bonneau i sur., 2000., Font-i-Furnols, 2012., Aaslyng i sur., 2016.). Obično se pronalazi kod 5-10% nekastriranih muških svinja (Aluwé i sur., 2020.), ali prevalencija može biti i veća ovisno o metodi otkrivanja, korištenim pragovima detekcije, karakteristikama tovljenika (genotip, dob pri klanju) ili čimbenicima okoline (hranidba, menadžment itd.). Uzrokuje ga nakupljanje visokih razina 16-androstenskih steroida, prvenstveno androstenona, te skatola i drugih indola u adipoznom (masnom) tkivu nerasta s približavanjem spolne zrelosti (Zamaratskaia i Squires, 2009.). Androstenon proizvode Leydig-ove stanice u testisima, a nakon otpuštanja u krvotok može se razgraditi u jetrima, reverzibilno pohraniti u masnom tkivu ili izlučiti slinom, gdje djeluje kao feromon i izaziva pojavu puberteta kod nazimica i parenja kod krmača (Squires i sur., 2020.). Razina androstenona u masti nekastriranih muških svinja kreće se od 0,1-0,2 µg/g do 5-10 µg/g (Walstra i sur., 1999.). Prilikom termičke obrade mesa otprilike trećina potrošača osjeća ga kao neugodan miris po urinu već pri malim koncentracijama (<0,5 µg/g), dok ga ostali

podjednako ili ne osjećaju ili im se čak i sviđa (Bonneau i Weiler, 2019.). Skatol nastaje u debelom crijevu kao metabolit aminokiseline triptofan iz odumrlih epitelnih stanica crijevne stijenke djelovanjem mikroflora te ima fekalni miris. Iz debelog crijeva se apsorbira u krvotok, nakon čega se reverzibilno pohranjuje u masnom tkivu ili ga može razgraditi jetra (Zamaratskaia i Squires, 2009.). Previsoka akumulacija skatola u masnom tkivu može se pojaviti zbog povećane brzine njegove biosinteze, smanjene brzina njegove razgradnje, ili zbog oba ova razloga (Squires i sur., 2020.). Stvara se u mužjaka i ženki, ali u većim koncentracijama nalazi se u masnom tkivu nerasta zbog sporije razgradnje kroz jetra uslijed inhibicije aktivnosti kataboličkih enzima od strane androstenona i drugih testikularnih steroida (Zamaratskaia i Squires, 2009.). Razina skatola kod nerasta kreće se od 0,01-0,02 do 0,5-1,0  $\mu\text{g/g}$  masti (Walstra i sur., 1999.) i za razliku od androstenona, većina ga potrošača percipira slično i ne voli miris i okus mesa kada je razina skatola visoka (npr. iznad 0,25  $\mu\text{g/g}$ ). Indignacija potrošača raste s povećanjem koncentracije jednog ili oba sastojka, a ovisi o njihovoj sposobnosti olfaktorne percepcije (Font-i-Furnols, 2012.).

Nerastovsko svojstvo u masti svinjskih polovica moguće je otkriti pomoću objektivnih i subjektivnih metoda. Objektivne analitičke metode za određivanje koncentracije androstenona i skatola temeljene na tekućinskoj ili plinskoj kromatografiji, mogu brzo i pozdano detektirati androstenon u uzorcima masti već ispod razine 0,05  $\mu\text{g/g}$ , a skatol i indole ispod 0,01  $\mu\text{g/g}$ , što može rezultirati vrlo velikim brojem (>50 %) pozitivnih nalaza ukoliko je prag osjetljivosti prenizak (Walstra i sur., 1999.). Osim toga, njihova je primjena povezana s laboratorijskim uvjetima zbog čega su manje prikladne za brzu primjenu na liniji klanja. Umjesto toga za brzo otkrivanje nerastovskog svojstva klaonice uobičajeno koriste senzornu procjenu polovica uporabom ljudskog nosa (Bee i sur., 2015.). Metoda zahtjeva zagrijavanje ili površinsko opaljivanje masnog tkiva na polovici na liniji klanja, kako bi se oslobodio miris nerasta ako je prisutan, što onda procjenjuje jedan ili više osposobljenih stručnjaka. U slučaju subjektivne ocjene ljudskim njuhom otkrivanje polovica s izraženim nerastovskim svojstvom prosječno ne prelazi 5 % (Mathur i sur., 2012.). Od ostalih metoda trenutno dostupnih za primjenu u klaonici treba spomenuti kolorimetrijsku metodu koja se godinama koristi u danskim klaonicama za određivanje skatola (i drugih indola) u uzorcima masnog tkiva i zahtjeva (od uzorkovanja do rezultata) 10 do 20 min, te nedavno razvijenu vrlo perspektivnu metodu tandemske masene spektroskopije s termalnom desorpcijom iona diodnim laserom (LDTD-MS/MS od engl. *laser diode thermal desorption ion source tandem mass spectrometry*), koja uz skatol mjeri i androstenon te zahtjeva manje od 10 s po uzorku, ali i visoka početna ulaganja (Font-i-Furnols i sur., 2020.).

### **Prednosti i nedostaci proizvodnje imunokastrata**

Imunokastracija, koja predstavlja imunizaciju protiv GnRH, izaziva tvorbu specifičnih antitijela koja vežu i neutraliziraju djelovanje GnRH (Thompson, 2000.). Ovime se dokida os hipotalamus-hipofiza-gonade i prekida lučenje gonadotropnih FSH (folikulostimulirajući) i LH (luteinizirajući) hormona, što ima za posljedicu zaustavljanje razvoja testisa i proizvodnje steroida u Leydig-ovim stanicama (Bonneau i Weiler, 2019.). Kao rezultat toga kod imunokastrata ne dolazi do pojave nerastovskog svojstva jer su razine androstenona neznatne, a niska je i razina skatola, vjerojatno zbog pojačanog metaboličkog klirensa u jetri nakon prestanka proizvodnje steroida, kao što se događa kod kirurških kastrata (Squires i sur., 2020.). Za induciranje tvorbe antitijela protiv GnRH potrebna su dva uzastopna cijepljenja u razmaku od najmanje 4 tjedna (Čandek-Potokar i sur., 2017.). Prvo cijepljenje (V1), u dobi oko 8-12 tjedna, tek neznatno utječe na broj GnRH antitijela. Endokrini sustav, tovnne performanse i ponašanje imunokastrata ostaju slični nerastima sve do druge aplikacije (V2), koja se obično provodi 4-6 tjedana prije klanja (Batorek i sur.,



2012b.), koliko je potrebno za uklanjanje prethodno nakupljenih nerastovskih spojeva iz masnog tkiva (Kress i sur., 2019.). Nekoliko dana nakon V2, ponašanje i performanse imunokastrata postaju mnogo sličnije kirurškim kastratima, s naglim smanjenjem agresivnog i seksualno motiviranog ponašanja (Baumgartner i sur., 2010., Puls i sur., 2017.) te izrazitim povećanjem (do 25 %) unosa hrane (Čandek-Potokar i sur., 2017.). Imunokastracija se može provesti s cjepivom Improvac® tvrtke Zoetis (jedna doza košta između 1,40 i 1,50 €), te cjepivom Valora® tvrtke Ceva, koje još nije komercijalno dostupno u Europi. Ako se cjepivo ispravno skladišti i pravilno koristi, gotovo 100 % procijepljenih životinja proizvodi dovoljno antitijela te sukladno tome reagira (svega 0-3 % životinja je bez imunološkog odgovora; Čandek-Potokar i sur., 2017.). Kao rezultat toga udio imunokastrata s razinama androstenona i skatola dovoljnim da izazovu pojavu nerastovskog svojstva također je vrlo nizak.

Sa stajališta dobiti glavna prednost imunokastracije je u izostanku boli i mogućih infekcija rana prisutnih kod kirurške kastracije (Morales i sur., 2017.), čime se smanjuje učestalost oboljenja i uginuća uslijed post operativnih komplikacija. Nakon V2 imunokastrati pokazuju manje agresivnosti i želje za skakanjem od nerasta (Reiter i sur., 2017.), a time i manje tegoba sa šepavosti i drugim ozljedama koje mogu nastati zbog naskakivanja i to u obje životinje, agresora i žrtve. Pored toga, imunokastracija reducira učestalost i ozbiljnost ozljeda penisa koje nastaju ugrizom nakon ekstruzije penisa kod seksualno motiviranog skoka, što je uočeno kod više od 10 % nerasta (Weiler i sur., 2016.).

Ekonomske koristi proizvodnje imunokastrata poglavito su vezane uz razdoblje do V2 do kada je zbog anaboličkog djelovanja spolnih hormona razvoj mišićnog tkiva pojačan. Međutim, nakon V2 životinje postaju masnije, jer se anabolički učinci smanjuju, a unos hrane povećava (Čandek-Potokar i sur., 2017.). Meta-analiza 78 provedenih istraživanja (Poulsen Nautrup i sur. 2018.) pokazala je da imunokastrati kroz čitavo razdoblje tova imaju veći dnevni prirast u usporedbi s kastratima (+26,30 g/dan) i nerastima (+59,4 g/dan), dok je konverzija hrane povoljnija nego u kastrata (-0,223 kg/kg prirasta), ali slabija nego u nerasta (+0,072 kg/kg prirasta). Posljedično tome, troškovi hranidbe imunokastrata negdje su između troškova nerasta i kastrata (prednost spram kastrata je procijenjena na 6,10 € po svinji; Europska Komisija, 2019.). Glede kakvoće trupa, imunokastrati imaju niži udio mesa u polovicama u usporedbi s nerastima, ali su mesnatiji i bolje konformacije (>udio butova i plečki) u odnosu na kastrate (Batorek i sur, 2012a.; Poulsen Nautrup i sur. 2018.). Kvaliteta mesa usporediva je onoj kirurških kastrata jer se u razdoblju nakon V2 do klanja povećava sadržaj intramuskularne masti a meso očisti od nerastovskih spojeva (Batorek i sur, 2012a.; Poulsen Nautrup i sur. 2018.). Uz to, smanjuje se problem meke masti jer nakon V2 s vremenom masne kiseline imunokastrata postaju zasićenije nego kod nerasta, što je prednost pri preradi mesa (Čandek-Potokar i sur., 2017.). Meso imunokastriranih svinja može se potpuno sigurno konzumirati bilo kada nakon cijepjenja.

Mana imunokastracije svakako su troškovi nabavke cjepiva i provedbe najmanje dvije, a ponekad i tri aplikacije, npr. kada V2 ne uspije (što se otkriva monitoringom ponašanja i veličine testisa nakon cijepjenja) ili je razmak između V2 i klanja >10 tjedana (npr. kod svinja većih završnih masa) kada učinci imunizacije proziv GnRH slabe te raste mogućnost obnove testikularnih funkcija (Einarsson i sur., 2009.). Sam postupak aplikacije cjepiva, naročito kod težih svinja, može biti zahtjevan za osobu koja provodi cijepjenje, uz vrlo mali, ali ipak prisutni rizik od slučajnog samo-ubrizgavanja cjepiva, što može dovesti do privremene neplodnosti kod ljudi, podjednako kod muškaraca i žena.

Premda imunokastracija ima nedvojbenu prednost sa stajališta dobrobiti u odnosu na proizvodnju kirurških kastrata ili nerasta, restriktivna hranidba imunokastrata nakon V2 može dovesti do agresivnijeg ponašanja i češće pojave kožnih lezija uslijed značajnog porasta apetita (Batorek i sur., 2012b.), zbog čega se navedeni način hranidbe ne preporučuje.

Konačno, prepreku većem uvođenju imunokastracije u sustav proizvodnje muških svinja često predstavljaju i sami dionici u lancu proizvodnje svinjskog mesa koji dovode u pitanje prihvaćanje ove prakse od strane potrošača (Kress i sur., 2019.). Unatoč često izraženim zabrinutostima, rezultati IPEMA ankete potrošača (Aluwé i sur., 2020.) provedene u 16 europskih zemalja sugeriraju da informirani potrošači dobro prihvaćaju imunokastraciju (71% u odnosu na 32% za kiruršku kastraciju bez ublažavanja boli).

### **Praktična rješenja u proizvodnji nekastriranih muških svinja i imunokastrata**

Problemi vezani uz nerastovsko svojstvo mogu se u praksi umanjiti na više načina, sukladno preporukama koje je dala Europska komisija (2019.) u finalnom izvješću o najboljim praksama proizvodnje, prerade i marketinga mesa nekastriranih svinja ili svinja imunokastriranih protiv nerastovskog svojstva, te COST akcija IPEMA u svojim mrežnim publikacijama ([www.ca-ipema.eu/papers](http://www.ca-ipema.eu/papers)). Ukratko, nekastrirane muške svinje trebaju biti držane odvojeno od ženskih svinja kako bi se smanjili problemi u ponašanju i spriječile neželjene rane bređosti, što je posebno važno u sustavima proizvodnje starijih i težih svinja. Odvajanje prema spolu obavlja se pri odbiću ili na početku tova. Razdvajanje nerasta i nazimica u odvojene skupine može biti u unutar istog objekta ili u različitim objektima, vodeći pri tome računa da blizina, miris ili glasanje nazimica mogu u nerasta povisiti razinu hormona povezanih uz pojavu nerastovskog svojstva. Razdvajanje po spolu ujedno olakšava kasniji menadžment hranidbe i klanja nerastova, koji može biti različit od ostalih kategorija. Formiranje stabilnih grupa iz istog legla bez miješanja nakon odbića do klanja također je korisna praksa za redukciju stresa, ali i prevenciju širenja bolesti. Nerastima u tovu treba osigurati dovoljno podne površine (npr.  $\geq 0,65 \text{ m}^2$  po svinji za svinje između 85 i 110 kg,  $\geq 1 \text{ m}^2$  za svinje iznad 110 kg) i u tovljstvu održavati optimalnu temperaturu (15-18 °C), ventilaciju i osvjetljenje. Preporuča se korištenje djelomično ili potpuno rešetkastog poda za uklanjanje mokraće i fekalija iz boksa i održavanje poda suhim i čistim, čime se umanjuje mogućnost apsorpcije skatola preko kože. Tamo gdje se pod stelji, slamu treba redovito nadopunjavati i održavati suhom i što čišćom. U boksu treba osigurati dovoljno svježih vode i omogućiti predmete za manipulaciju i istraživanje, što pomaže održati neraste mirnima i zauzetima. Hranidba nerasta ne smije biti restriktivna već ih treba hraniti sukladno hranidbenim potrebama. Postupci kojima se umanjuje konkurencija pri hranjenju pomažu smanjenju stresa i agresije. Primjerice, upotreba hranilica s više zasebnih prostora za hranjenje i ponuda hrane u dužim valovima (min. 22 cm po tovljeniku) mogu biti praktično rješenje.

Izbor pasmine/genotipa također može imati ulogu u pojavnosti nerastovskog svojstva (Frieden i sur., 2011.), pri čemu pasmine bržeg porasta i ranijeg spolnog sazrijevanja poput duroka, zbog viših razina androstenona mogu biti manje poželjne u proizvodnji nekastriranih muških svinja. Selekcija na nižu razinu androstenona (heritabilitet  $>0,50$ ; Strathe i sur., 2013.) unutar pasmine je moguća, no može imati negativan utjecaj na prirast i plodnost. Ipak, nekoliko je vodećih uzgojnih kompanija smanjilo ovaj problem kod svojih terminalnih linija nerasta, primjerice Topigs Norsvin kod linija Talent, Tempo i Top Pi te specijalne linije Nador ( $>50\%$  manja pojava nerastovskog svojstva kod potomstva) ili francuski Nucleus u svojoj INO (od franc. *inodore* – bez mirisa) liniji pietrena. Problem može predstavljati viša

cijena ovakve sperme (npr. premija +1 €/dozi za Nador spermu) te njezina dostupnost u pojedinim zemljama. Također treba uzeti u obzir i potencijalni doprinos genetskog materijala krmača.

Glede utjecaja hranidbe, poznato je da dodatak fermentabilnih ugljikohidrata (npr. inulin iz korijena cikorije, fruktooligosaharidi, krumpirov škrob, pulpa šećerne repe) u obroku u zadnjim tjednima tova može učinkovito umanjiti nerastovsko svojstvo (Bee i sur., 2020.), poglavito kroz utjecaj na nižu endogenu produkciju skatola (Squires i sur., 2020.). Naime, nakon unosa ovih krmiva promijenjeni uvjeti u crijevima smanjuju apoptozu epitelnih stanica i raspoloživost triptofana za sintezu skatola i drugih indola, pa se crijevna mikroflora okreće metaboliziranju drugih izvora. Ipak, ovakav je pristup skup (100 kg inulina košta oko 200 €) i za sada nema veću komercijalna primjenu, mada neka istraživanja pokazuju da se vrijeme davanja inulina prije klanja može skratiti na 3-4 dana uz zadržavanje pozitivnih rezultata (Bee i sur., 2020.), čime se troškovi mogu značajno smanjiti. Na nekim tržištima (npr. u Belgiji) dostupne su krmne smjese koje sadrže kombinaciju sastojaka koji smanjuju pojavu nerastovskog svojstva, a daju se nerastima zadnjih nekoliko tjedana prije klanja. Međutim, zbog više cijene (npr. „Taintstop“ smjesa u Belgiji košta oko 100 € više po toni u odnosu na standardnu smjesu) još uvijek nisu u široj komercijalnoj upotrebi.

Kako bi se prevenirala pojava nerastovskog svojstva, klanje nerasta preporučuje se obavljati u mlađoj dobi ili pri nižim tjelesnim masama nego što bi se to radilo za ostale spolne kategorije svinja. Stoga u ovakvoj proizvodnji treba računati s nižom klaoničkom masom (kategorija N – mladi nerasti) koja može biti povezana s nižom cijenom polovica i većim troškovima klanja, ali je zato povrat kapitala brži. Završne mase u tovu nerasta, ovisno o tržištu, kreću se od 100 do 115 kg, iako postoje sustavi gdje se nerasti kolju i pri većim završnim masama (do 130 kg) (De Roest i sur., 2009.).

Vezano uz klaoničku praksu, prijevoz svinja do klaonice treba obavljati u odvojenim grupama prema spolnim kategorijama. Ovakva praksa pomaže u smanjenju stresa i olakšava klaonici prijem i logistiku klaoničke obrade nerastova te otkrivanje nerastovskog svojstva. Rutinska metoda za otkrivanje i razvrstavanje trupova nekastriranih muških svinja sa nerastovskim svojstvom od onih bez njega u klaonicama je metoda ljudskog nosa (Bonneau i Weiler, 2019.). Prikladna je za brzu primjenu na liniji klanja i daje pouzdane rezultate kada se pravilno implementira. Provodi se nakon rasijecanja u polovice, a prije hlađenje i zahtjeva zagrijavanje i njušenje masnog tkiva svakog trupa od strane obučениh ocjenjivača. Zagrijavanje (vrućim zrakom, otvorenim plamenom ili užarenim željezom) treba primijeniti na masno tkivo u predjelu vrata, koja je lako dostupno i daje pouzdanije rezultate pri provjeri od drugih masnih depoa (npr. abdominalne masti). Za provedbu testiranja potrebno je angažirati dovoljno obučenog i raspoloživog osoblja, a metoda je održiva samo kada je priljev nerasta u klaonicu kontinuiran i odvojen od ostalih spolnih kategorija. Trupove s pozitivnim nalazom mirisa nerasta treba označiti i odvojiti od redovne sirovine, za što je u hladnjači potrebno osigurati dovoljno prostora, te ih preraditi pod posebnim režimom na način koji minimalizira problem nerastovskog svojstva (Škrlep i sur., 2020.). Jedan od mogućih pristupa je prerada zahvaćenog mesa u mesne proizvode koji se konzumiraju hladni jer je tada miris nerasta obično manje uočljiv. Ostale mogućnosti prerade uključuju miješanje izdvojenog mesa s redovnom sirovinom, npr. u proizvodnji kobasica i drugih restrukturiranih proizvoda od usitnjenog mesa, čime se smanjuje udio spojeva odgovornih za nerastovsko svojstvo u gotovom proizvodu, zatim postupke salamurenja i fermentacije koji mijenjaju miris, okus i teksturu proizvoda što također može smanjiti percepciju nepoželjnih svojstava, jednako kao i korištenje začina, npr. za marinirano meso ili kobasičarske proizvode, ili tekućeg dima koji se distribuira u unutrašnjost proizvoda i tako „maskira“ neugodan miris.

U svakom slučaju klaonički i meso-prerađivački subjekti koji se žele uključiti u sustav proizvodnje nekastriranih muških svinja trebaju predvidjeti odgovarajući menadžment prerade i plasmana mesa s nerastovskim svojstvom. Ipak, uz postotak trupova s nerastovskim svojstvom između 1 i 3 %, koliko danas uobičajeno prijavljuju europske klaonice pri klanju nekastriranih muških svinja (Europska komisija, 2019.), očekivani udio ovakvog mesa u preradi neće biti velik. Također, treba spomenuti i da pojedini etablirani proizvodni lanci u kojima se nerasti kolju pri klaoničkim masama koje se ne smatraju rizičnima za pojavu nerastovskog svojstva u praksi više ne provode kontrolu nerastovskog svojstva na liniji klanje niti odvojeno obrađuju meso.

U proizvodnji imunokastrata, ovisno o državi cijepjenje svinja mogu provoditi sami farmeri ili druge osobe uz uvjet da su obučeni i certificirani od strane dobavljača cjepiva kako bi se postupak aplikacije provodio stručno i sukladno uputama. Cjepivo treba aplicirati pod kožu iza uha koju prethodno (po potrebi) treba očistiti i osušiti. Svinje prije cijepjenja treba grupirati na jednoj strani boksa, a nakon aplikacije cjepiva svaku životinju treba odmah označiti (npr. markerom) i izdvojiti na drugu stranu. U slučaju dvojbe je li svinja uspješno primila dozu, postupak cijepjenja treba odmah ponoviti. Kako bi se rizik od slučajne samoimunizacije kod osobe koja provodi cijepjenje svinja sveo na minimum (Europska komisija, 2019.) za aplikaciju cjepiva treba koristiti isključivo specijalnu injekciju tj. pištolj za doziranje sa sigurnosnim mehanizmom (igla je zaštićena i aktivira se tek kada se pištolj pritisne na tijelo svinje i povuče okidač), a pištolj treba uvijek držati usmjeren dalje od svog vlastitog tijela te nositi zaštitnu odjeću. Pištolj za doziranje cjepiva (npr. Secure Plus proizvođača NJ Phillips ili Sekurus Simcro) distributeri cjepiva obično isporučuju besplatno zajedno s cjepivom.

Načelni vremenski okvir provedbe cijepjenja u proizvodnji imunokastrata je za V1 od 8 do 12 tjedna starosti i za V2 najmanje 4 tjedna nakon aplikacije V1 i u roku 4 do 6 tjedana prije klanja. Npr. ako je klanje predviđeno u 24-25 tjednu starosti, V2 se može provesti u 19 tjednu. Učinci imunizacije protiv pojave nerastovskog svojstva nastupaju 2-3 tjedna nakon V2 i traju otprilike 10 tjedana (Einarsson i sur., 2009.). Iznimno, treća aplikacija (V3) biti će potrebna kod svinja koje nisu reagirale na V2, što je u praksi relativno rijetko, ili u proizvodnji težih i starijih svinja. Kako bi se smanjila razina agresivnosti među svinjama koja raste s nastupom puberteta pri dobi od 16-18 tjedana, neki proizvođači apliciraju V2 što je ranije moguće, npr. već u 17 tjednu starosti. Ovakva praksa osim na dobrobit povoljno djeluje i na kakvoću mesa jer maksimalizira nakupljanje masti. Pri tome treba voditi računa da se cjepivo ne smije koristiti kod svinja mlađih od 8 tjedana i da drugu dozu cjepiva treba primijeniti najmanje četiri tjedna nakon prve. U sustavima proizvodnje većih svinja, bilo za svježe meso ili za preradu (npr. u Španjolskoj), uobičajeno se koriste protokoli s 3 cijepjenja (npr. ako je klanje svinja planirano u dobi od 28 do 32 tjedna, tada se V3 može dati u dobi od 24 tjedna).

Uspješnost provedbe cijepjenja provjerava se praćenjem ponašanja svinja 2-3 tjedna nakon V2. Kontrola se može vršiti u bilo koje doba dana, uz izbjegavanje vremena hranjenja ili najtoplijeg razdoblja dana kada su svinje manje aktivne. Inspekciju treba provoditi polaganim hodanjem kroz koridor i opservacijom svinja u svakom boksu kroz nekoliko minuta ili mirnim ulaskom u boks na 10-15 minuta koliko je potrebno da se svinje naviknu na prisutnost čovjeka i počnu normalno ponašati. Znaci koji ukazuju da cijepjenje pojedine životinje možda nije bilo uspješno jesu učestalo ponavljani pokušaji naskakivanja i penetracije drugih svinja u boks, uvećani i pocrvenjeli testisi i opetovano agresivno ponašanje. Na temelju ovih provjera sumnjive se životinje ponovno označavaju i cijepi, što može povisiti ukupne troškove nabavke cjepiva.

Glede hranidbe, prije V2 imunokastrati se hrane jednako kao i nerasti. Nakon V2 u odnosu na neraste, imunokastratima se povećava apetit (+20-25 %) te brže dobivaju na masi (+5 % dnevno), dok su im potrebe na lizinu niže. Hranidbu imunokastrata stoga treba prilagoditi i povećati dnevnu količinu hrane, što u konačnici ne mora nužno povisiti troškove hrane jer vakcinirane svinje rastu brže i ranije postižu masu za klanje.

### Zaključak

Proizvodnja svinjskog mesa od nekastriranih muških svinja i imunokastrata sa svim svojim prednostima i nedostacima, izgledne su alternative kirurškoj kastraciji muških odojaka čije postupno uvođenje širom Europe posljednjih godina sve više mijenja svinjogojski sektor kakav poznajemo. Uspjeh proizvodnje nekastriranih muških svinja i imunokastrata ovisiti će o usklađenom djelovanju na svim razinama proizvodnog lanca svinjskog mesa. Pri tome svi dionici u lancu moraju usko surađivati pri pronalaženju optimalnih kompromisa između performansi i kvalitete, te podjeli troškova i koristi povezanih s odabranom alternativom.

### Napomena

Rad je proizašao iz sudjelovanja koautora u projektu COST-IPEMA ‘Innovative Approaches for Pork Production with Entire Males’ (CA 15215).

### Literatura

- Aluwé M., Heyrman E., Almeida J.M., Babol J., Battacone G., Čitek J., Font i Furnols M., Getya A., Karolyi D., Kostyra E., Kress K., Kušec G., Mörlein D., Semenova A., Škrlep M., Stoyanchev T., Tomašević I., Tudoreanu L., Van Son M., Żakowska-Biemans S., Zamaratskaia G., Van den Broeke A., Egea M. (2020). Exploratory Survey on European Consumer and Stakeholder Attitudes towards Alternatives for Surgical Castration of Piglets. *Animals*, 10(10): 1758.
- Aaslyng M.D., Honnens E., Lichtenberg Broge D., Brockhoff P.B., Christensen R.H.B. (2016). The effect of skatole and androstenone on consumer response towards fresh pork from m. longissimus thoracis et lumborum and m. semimembranosus. *Meat Science*, 116: 174-185.
- Batorek N., Čandek-Potokar M., Bonneau M., Van Milgen J. (2012a). Meta-analysis of the effect of immunocastration on production performance, reproductive organs and boar taint compounds in pigs. *Animal*, 6: 1330–1338.
- Batorek N., Škrlep M., Prunier A., Louveau I., Noblet J., Bonneau M., Čandek-Potokar M. (2012b). Effect of feed restriction on hormones, performance, carcass traits, and meat quality in immunocastrated pigs. *Journal of Animal Science*, 90: 4593–4603.
- Baumgartner J., Laister S., Koller M., Pfützner A., Grodzycki M., Andrews S., Schmoll F. (2010). The behaviour of male fattening pigs following either surgical castration or vaccination with a GnRF vaccine. *Applied Animal Behaviour Science*, 124: 28–34.
- Bee G., Chevillon P., Bonneau M. (2015). Entire male pig production in Europe. *Animal Production Science*, 55(12): 1347-1359.
- Bee G., Quiniou N., Maribo H., Zamaratskaia G., Lawlor P.G. (2020). Strategies to Meet Nutritional Requirements and Reduce Boar Taint in Meat from Entire Male Pigs and Immunocastrates. *Animals*, 10(10): 1950.
- Boars heading for 2018 - Factsheet Producing and marketing entire male pigs. Dostupno na poveznici: <https://www.boarsontheway.com/wp-content/uploads/2018/09/factsheet-boars2018-log-fin-15-9-2014.pdf> (pristupljeno 01. studeni 2020.).
- Bonneau M. (1998). Use of entire males for pig meat in the European Union. *Meat Science*, 49: 257–272.
- Bonneau M., Walstra P., Claudi-Magnussen C., Kempster A.J., Tornberg E., Fischer K., Diestre A., Siret F., Chevillon P., Claus R., Dijksterhuis G., Punter P., Matthews K.R., Agerhem H., Béaague M.P., Oliver M.A., Gispert M., Weiler U., Von Seth G., Leask H., Font i Furnols M., Homer D.B., Cook G.L. (2000). An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint: IV. Simulation studies on consumer dissatisfaction with entire male pork and the effect

- of sorting carcasses on the slaughter line, main conclusions and recommendations. *Meat Science* 54: 285-295.
- Bonneau M., Weiler U. (2019). Pros and cons of alternatives to piglet castration: Welfare, boar taint, and other meat quality traits. *Animals*, 9(11): 884.
- Claus R., Weiler U. (1994). Endocrine regulation of growth and metabolism in the pig: A review. *Livestock Production Science*, 37: 245–260.
- COST Action IPEMA – Fact sheet: Pork production with entire males; Fact sheet: Pork production with immunocastrates. Dostupno na poveznici: <http://www.ca-ipema.eu/papers> (pristupljeno 15. listopada 2020).
- Čandek-Potokar M., Škrlep M., Zamaratskaia G. (2017). Immunocastration as Alternative to Surgical Castration in Pigs. *Theriogenology*, 6: 109–126.
- Dämmgen U., Berk A., Otten C., Brade W., Hutchings N.J., Haenel H.D., Rösemann C., Dänicke S., Schwerin M. (2013). Anticipated changes in the emissions of green-house gases and ammonia from pork production due to shifts from fattening of barrows towards fattening of boar. *Landbauforsch*, 63: 47-60.
- De Briyne N. Berg C. Blaha T. Temple D. (2016). Pig castration: Will the EU manage to ban pig castration by 2018? *Porcine Health Management*, 2: 29.
- De Roest K., Montanari C., Fowler T., Baltussen W. (2009). Resource efficiency and economic implications of alternatives to surgical castration without anaesthesia. *Animal*, 11: 1522–31.
- Einarsson S., Andersson K., Wallgren M., Lundström K., Rodriguez-Martinez H. (2009). Short- and long-term effects of immunization against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac TM, on sexual maturity, reproductive organs and sperm morphology in male pigs. *Theriogenology*, 71: 302–310.
- Europska Komisija (2010). European declaration on alternatives to surgical castration of pigs. Dostupno na poveznici: [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/animals/docs/aw\\_prac\\_farm\\_pigs\\_cast-alt\\_declaration\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/animals/docs/aw_prac_farm_pigs_cast-alt_declaration_en.pdf) (pristupljeno 15. listopada 2020).
- Europska Komisija (2019). EU Health and Food Safety Directorate. Establishing Best Practices on the Production, the Processing and the Marketing of Meat from Uncastrated Pigs or Pigs Vaccinated against Boar Taint (Immunocastrated). Final Report 14 March 2019. Dostupno na poveznici: [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/animals/docs/aw\\_prac\\_farm\\_pigs\\_cast-alt\\_establishing-best-practices.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/animals/docs/aw_prac_farm_pigs_cast-alt_establishing-best-practices.pdf) (pristupljeno 01. studeni 2020.).
- EU Direktiva 2008/120/EZ (2009). Europska unija Direktiva vijeća 2008/120/EZ od 18. prosinca 2008. o utvrđivanju minimalnih uvjeta za zaštitu svinja (Kodificirana verzija). *Službeni list Europske unije* 03(54): 147-155.
- EFSA (2004). Opinion of the scientific panel on animal health and welfare on a request from the Commission related to welfare aspects of the castration of piglets. *EFSA Journal*, 91: 1–18.
- Font-i-Furnols M. (2012). Consumer studies on sensory acceptability of boar taint: A review. *Meat Science*, 92: 319-329.
- Font-i-Furnols M., Martín-Bernal R., Aluwé M., Bonneau M., Haugen J.-E., Mörlein D., Mörlein J., Panella-Riera N., Škrlep M. (2020). Feasibility of on/at Line Methods to Determine Boar Taint and Boar Taint Compounds: An Overview. *Animals*, 10(10): 1886.
- Frieden L., Looft C., Tholen E. (2011). Breeding for reduced boar taint. *Lohmann Information*, 46(1): 21–27.
- Kress K., Millet S., Labussière É. Weiler U., Stefanski V. (2019). Sustainability of Pork Production with Immunocastration in Europe. *Sustainability*, 11: 3335.
- Lundström K., Matthews K.R., Haugen J.E. (2009). Pig meat quality from entire males. *Animal*, 3: 1497–1507.
- Marchant-Forde J.N., Lay Jr D.C., McMunn K.A., Cheng H.W., Pajor E.A., Marchand-Forde J.N. (2009). Postnatal piglet husbandry practices and well-being: The effects of alternative techniques delivered separately. *Journal of Animal Science*, 87:1479–92.
- Mathur P.K., ten Napel J., Bloemhof S., Heres L., Knol E.F., Mulder H.A. (2012). A human nose scoring system for boar taint and its relationship with androstenone and skatole. *Meat Science*, 91: 414–422.

- Morales J., Dereu A., Manso A., de Frutos L., Piñeiro C., Manzanilla E.G., Wuyts N. (2017). Surgical castration with pain relief affects the health and productive performance of pigs in the suckling period. *Porcine Health Management*, 3: 18.
- Poulsen Nautrup B., Vlaenderen I.V., Aldaz A., Mah C.K. (2018). The effect of immunization against gonadotropin-releasing factor on growth performance, carcass characteristics and boar taint relevant to pig producers and the pork packing industry: A meta-analysis. *Research in Veterinary Science*, 119: 182–195.
- Prunier A., Bonneau M., von Borell E.H., Cinotti S., Gunn M., Fredriksen B., Giersing M., Morton D.B., Tuytens F.A.M., Velarde A. (2006). A review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods. *Animal Welfare*, 15: 277–289.
- Puls C.L., Rojo A., Matzat, P.D., Schroeder, A.L., Ellis M. (2017). Behavior of immunologically castrated barrows in comparison to gilts, physically castrated barrows, and intact male pigs. *Journal of Animal Science*, 95: 2345–2353.
- Reiter S., Zöls S., Ritzmann M., Stefanski V., Weiler U. (2017). Penile Injuries in Immunocastrated and Entire Male Pigs of One Fattening Farm. *Animals*, 7: 71.
- Squires E.J., Bone C., Cameron J. (2020). Pork Production with Entire Males: Directions for Control of Boar Taint. *Animals*, 10(9): 1665.
- Strathe A.B., Velandar I.H., Mark T., Kadarmideen H.N. (2013). Genetic parameters for androstenone and skatole as indicators of boar taint and their relationship to production and litter size traits in Danish Landrace. *Journal of Animal Science*, 91: 2587-2595.
- Škrlep M., Tomašević I., Mörlein D., Novaković S., Egea M., Garrido M.D., Font-i-Furnols M. (2020). The Use of Pork from Entire Male and Immunocastrated Pigs for Meat Products - An Overview with Recommendations. *Animals*, 10(10): 1754.
- Thompson, D.L. (2000). Immunization against GnRH in male species (comparative aspects). *Animal Reproduction Science*, 60–61: 459–469.
- Von Borell, E., Baumgartner, J., Giersing, M., Jägglin, N., Prunier, A., Tuytens, F.A.M., Edwards, S.A. (2009). Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs. *Animal*, 3: 1488–1496.
- Von Borell E., Bonneau M., Holinger M., Prunier A., Stefanski V., Zöls S., Weiler U. (2020): Welfare Aspects of Raising Entire Male Pigs and Immunocastrates. *Animals*, 10(10): 2140.
- Walstra P., Claudi-Magnussen C., Chevillon P., Von Seth G., Diestre A., Matthews K.R., Homer D.B., Bonneau M. (1999). An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint: Levels of androstenone and skatole by country and season. *Livestock Production Science*, 62: 15–28.
- Weiler, U., Wesoly, R. (2012). Physiology of skatole- and androstenone formation in the boar. *Zuchtungskunde*, 84(5): 365–393.
- Weiler U., Isernhagen M., Stefanski V., Ritzmann M., Kress K., Hein C., Zöls S. (2016). Penile Injuries in Wild and Domestic Pigs. *Animals*, 6: 25.
- Zamaratskaia G. Squires E.J. (2009). Biochemical, nutritional and genetic effects on boar taint in entire male pigs. *Animal*, 3: 1508–1521.

## **Advantages and challenges in the pork production with entire males and immunocastrated pigs**

### **Abstract**

The production of immunocastrated and entire male pigs, as an alternative to surgical castration of male piglets, resulted in numerous new challenges in the pig production. The novel matters in this production are mainly related to detection and mitigation of boar taint and aggressive behaviour of intact male pigs, as well as to animal welfare issues, specific nutritional needs and housing conditions, carcass composition, meat quality traits and acceptability by the consumers. The current paper gives an overview of main advantages and drawbacks in the production of pork with entire male pigs and immunocastrates together with some practical solutions and recommendations.

**Key words:** pigs, boar taint, surgical castration, production of entire males, immunocastration



## Nutritional value of wheatgrass juice – estimation on the basis of mineral concentrations

Andrijana Rebekić<sup>1</sup>, Sanja Grubišić<sup>1</sup>, Marija Kristić<sup>1</sup>, Katarina Mišković Špoljarić<sup>2</sup>, Miroslav Lisjak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek, Croatia (andrijana.rebekic@fazos.hr)

<sup>2</sup>Faculty of Medicine in Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, Josipa Huttlera 4, Osijek, Croatia

### Abstract

The aim of this research was to compare nutritional value of wheatgrass juice to apple, carrot, beet, lemon, orange, cabbage, Swiss chard and celery fresh juice on the basis of K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn concentrations. A concentration of elements in juices was determined by ICP – OES technique. According to one sample t test ( $p < 0.05$ ) wheatgrass juice had significantly higher concentrations of all examined elements in comparison to apple, carrot, lemon, orange and cabbage juice. As hierarchical cluster analysis revealed, regarding the mineral concentrations, wheatgrass juice is most similar to Swiss chard and beet juice. Obtained results indicated that wheatgrass juice is valuable source of minerals. Therefore, it can be recommended for use in daily diet alongside commonly used juices.

**Key words:** wheatgrass, functional food, bioavailability, mineral deficiency

### Introduction

A food is main source of nutrients for humans, and a food that we consume should contain all nutrients necessary for normal functioning of organism. It is well known that there is a strong link between nutrition and health, therefore diverse and regular diet should be of high importance to all. Despite that, in a modern, busy lifestyle diet is often unregular and undiversified which can lead to numerous health issues. Besides, sometimes available foodstuff and groceries are poor in essential nutrients. Although mineral deficiencies are more common in underdeveloped countries (Muthayya et al., 2013), certain deficiencies are prevalent in developed countries too (Mensink et al., 2013, Péter et al., 2014). To overcome nutrient deficiencies, humans are in a constant search for quick and easy ways of getting all required nutrients into the body.

The benefits of fruit and vegetable juices are well known. Rich in fibre, vitamins, minerals and amino acids, fruit and vegetable juices or their mixture are simple and affordable way to compensate for undiverse diet. Mixed fruit and vegetable juice increase vitamins (Samman et al., 2003), minerals (Krośniak et al., 2010, Prynne et al., 2006), antioxidants (Kiefer et al., 2014) and folate (Esfahani et al., 2013) in serum. Besides, green leafy vegetable that is commonly used in juices, lowers the risk of diabetes (Bazzano et al., 2008, Cene and Pignone, 2011). In general, fruit and vegetable juices lower the risk of many disease and the extensive review on fruit and vegetable juices role in cancer, cardiovascular and other diseases outcome is given by Taylor et al. (2020).

Wheatgrass is young wheat (*Triticum aestivum* L.) whose leaves are cut prior to jointing stage and used as a natural food supplement. A wheatgrass is commonly used as wheatgrass powder (WGP) and wheatgrass juice (WGJ). As well as fruit and vegetable juices, wheatgrass juice is also rich in chlorophyll (Skoczylas et al., 2018), vitamins, minerals, antioxidants (Kulkarni et al., 2006, Skoczylas et al., 2018) amino acids and other nutrients.

Besides, there are numerous reports indicating that consumption of wheatgrass could improve overall health (Wakeham, 2013, Eissa et al., 2020, Sareen et al., 2014, Babitha et al., 2019, Balakrishnan, 2020).

Fresh fruit and vegetable juices health benefits are known and well accepted by wider population, while benefits of WGJ are still unknown to majority and many have doubts about WGJ nutritional value. With this in mind, the aim of this research was to evaluate nutritional value of fresh WGJ on the basis of K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn concentrations in fresh WGJ by comparing these concentrations with concentrations of the same elements in selected, commonly used fruit and vegetable juices. Accordingly, hypothesis of this research is that there are no significant differences in K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn concentration between wheatgrass and apple, carrot, lemon, orange, beet, cabbage, celery and Swiss chard fresh juice.

### Material and methods

A selected wheat genotypes ( $n = 103$ ) are part of gene collection of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek. Seed preparation and sowing are carried out according to Grubisic et al. (2019). Wheatgrass has been grown in shallow plates filled with organic substrate in plant growing chamber. Temperature in plant growing chamber was set at  $20^{\circ}\text{C}$  and day/night cycle was 14/10. On twelfth day, young leaves were cut around two centimetres above soil and used for preparation of WGJ. WGJ was prepared with manual wheatgrass juicer Wheatgrass BL-30 (Be Lih Do Enterprise co., LTD).

Fruits and vegetables were purchased at the local supermarket. Apple, carrot and beet juices were made by electric juicer, lemon and orange juices were squeezed (cold pressed), while cabbage, Swiss chard and celery juices were made by wheatgrass juicer Wheatgrass BL-30.

Collected WGJ, apple, carrot, beet, lemon, orange, cabbage, Swiss chard and celery juices were wet digested with 6 mL 65% (v/v)  $\text{HNO}_3$  and 2 mL 30% (v/v)  $\text{H}_2\text{O}_2$  according to Kingstone and Lassie (1986). Concentrations of K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn were determined by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) technique.

Experiment was set up according to completely randomized design with three replicates. Average mineral concentrations in juices were expressed as arithmetic mean  $\pm$  standard deviation (for WGJ), and arithmetic mean  $\pm$  standard error of mean (for fruit and vegetable juices). The differences between WGJ and tested juices in K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn concentrations ( $\text{mg L}^{-1}$ ) were obtained by one sample t test ( $p < 0.05$ ), where elemental concentrations obtained in sample of WGJ ( $n = 309$ ) were compared to average concentration of each element in each fruit or vegetable juice. Grouping of juices according to similarity in mineral concentrations was carried out by hierarchical clustering, based on centroid method. Similarity of juices was calculated and expressed as squared Euclidean distance. A calculation is performed on Z transformed data. The Enterprise Guide 5.1. of the SAS System for Windows (Copyright© 2012 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USD, All Rights Reserved) and the JMP® 9.0.2 statistical package (Copyright© 2012 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USD, All Rights Reserved) were used for all analysis.

## Results and discussion

The aim of this research was to evaluate nutritional value of fresh WGJ on the basis of K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn concentrations. An average concentration of examined elements are calculated on the sample of 103 wheat genotypes and represents average of three replicates ( $n = 309$ ). An average concentration of examined elements were ordered as follows  $K > Ca > Mg > Mn > Fe > Zn$  (Table 2 and Table 3). Similar elemental concentrations in wheatgrass juice were found by Kulkarni et al. (2006) and Reddy et al. (2008). As it was expected, variability of examined concentrations was high, and in range between 14 (Mg) and 29% (K) (Table 1). A high variability of wheat genotypes in concentrations of examined elements is due to large diversity of genotypes included in this research. Accumulation of minerals as well as concentration of minerals in grain and other plant parts are among other things, determined by genotype specificity to accumulate specific element (Clark, 1983, Milivojević et al., 2018). Genotypes included in this research are chosen on the basis of mineral concentrations in grain. The one of the main criterion for inclusion of genotype in this research was that selected genotypes encompasses wide range of variability in concentrations of examined minerals. This resulted in a large range of concentrations of all tested elements in WGJ (Table 1).

Table 1. Minimum, maximum, and coefficient of variability (%) of K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn concentration ( $\text{mg L}^{-1}$ ) in fresh wheatgrass juice ( $n = 309$ )

	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	<b>CV (%)</b>
K	1746	5408	29
Ca	239.4	599.6	16
Mg	146.1	332.5	14
Mn	2.24	5.84	18
Fe	1.95	5.16	16
Zn	1.34	3.93	19

In comparison to K concentration in WGJ, apple, carrot, lemon, orange and cabbage juices had significantly lower, while beet, celery and Swiss chard had higher K concentration than WGJ (Table 2). Highest K concentration has been found in beet juice, and it was 21% higher than in WGJ. On the other hand, apple juice had lowest K concentration, which was 78% lower than in WGJ.

Celery juice had highest Ca concentration in comparison to other examined juices, and that concentration was 13-fold higher than in WGJ (Table 2). In addition, Ca concentration in all other juices was significantly lower than in WGJ (Table 2).

Compared to WGJ, beet (30%) and celery juices (54 %) had significantly higher Mg concentrations, while all other examined juices had lower Mg concentrations than WGJ (Table 2). In general, apple juice had lowest concentrations of K, Ca, and Mg, while highest Ca and Mg concentrations were found in celery juice. Considering K, Ca and Mg concentrations, beet, celery and Swiss chard K concentrations, and celery and beet Mg concentrations are comparable to WGJ. Also, it should be pointed out that celery had extremely high Ca concentration. A Ca concentration in celery can range between 4 and 10 %, which makes a celery juice a highly potent source of K.

Table 2 Average concentrations and results of one sample t test for the difference between fruit or vegetable juice and WGJ (n=309) in K, Ca and Mg concentration (mg L<sup>-1</sup>)

	<b>K</b>	<b>t value</b>	<b>Ca</b>	<b>t value</b>	<b>Mg</b>	<b>t value</b>
Apple <sup>a</sup>	730.7 ± 7.31 <sup>a</sup>	46.78**	16.0 ± 0.37	103.6**	21.0 ± 0.81	112.1**
Carrot <sup>a</sup>	2109 ± 126	22.17**	59.4 ± 0.96	90.85**	33.4 ± 1.48	105.5**
Lemon <sup>a</sup>	1257 ± 73.1	37.37**	63.5 ± 1.32	89.63**	69.2 ± 4.02	86.79**
Orange <sup>a</sup>	1766 ± 53.4	28.29**	97.2 ± 0.59	79.71**	111.6 ± 3.63	64.55**
Beet <sup>a</sup>	4067 ± 187	-12.79**	30.3 ± 0.55	99.43**	305.9 ± 0.06	-37.37**
Cabbage <sup>a</sup>	1474 ± 54.2	33.51**	55.1 ± 3.54	92.11**	42.7 ± 1.57	100.6**
Celery <sup>a</sup>	3662 ± 743	-5.57**	4847 ± 573	-1321**	362.6 ± 22.9	-67.12**
S. chard <sup>a,c</sup>	3493 ± 526	-2.55*	158.5 ± 35.49	60.61**	170.6 ± 5.51	33.61**
WGJ <sup>b</sup>	3350 ± 984.25 <sup>b</sup>		367.3 ± 59.57		234.7 ± 33.52	

a Data are presented as the means ± standard error of mean (n = 3)

b Data are presented as the mean ± standard deviation (n = 309)

c Swiss chard

\*\* significant difference (p < 0.01); \* significant difference (p < 0.05); n.s. non-significant (p > 0.05)

A WGJ had higher concentrations of Mn in comparison to apple, carrot, lemon, orange, beet and cabbage juice (Table 3). On the other hand, celery (73%) and Swiss chard (39%) had Mn concentration (table 3) higher than WGJ.

A highest Fe concentration was measured in celery juice. Observed concentration was 7.7-fold higher than in WGJ (Table 3). Beside celery juice, only Swiss chard juice (41%) had Fe concentration higher than WGJ. All other juices had Fe concentration significantly lower than WGJ (Table 3).

Both, beet and celery juices had Zn concentration higher than in WGJ (Table 3). Highest Zn concentration is observed in celery juice and it was 91% higher than in WGJ, while Zn concentration in beet juice was 29% higher than in WGJ. The lowest Zn concentrations were found in apple, carrot, lemon, and orange, and they were 86%, 60%, 75% and 84% lower than in WGJ, respectively.

Table 3 Average concentrations and results of one sample t test for the difference between fruit or vegetable juice and WGJ (n = 309) in Mn, Fe and Zn concentration (mg L<sup>-1</sup>)

	<b>Mn</b>	<b>t value</b>	<b>Fe</b>	<b>t value</b>	<b>Zn</b>	<b>t value</b>
Apple <sup>a</sup>	0.119 ± 0.002	92.58**	0.127 ± 0.006	104.0**	0.303 ± 0.007	77.62**
Carrot <sup>a</sup>	0.695 ± 0.021	77.35**	1.637 ± 0.009	58.28**	0.837 ± 0.034	57.72**
Lemon <sup>a</sup>	0.087 ± 0.001	93.45**	0.385 ± 0.008	96.27**	0.523 ± 0.031	68.16**
Orange <sup>a</sup>	0.115 ± 0.002	92.69**	2.573 ± 0.172	29.94**	0.344 ± 0.021	75.86**
Beet <sup>a</sup>	0.720 ± 0.001	76.69**	3.036 ± 0.007	15.87**	2.747 ± 0.106	-27.01**
Cabbage <sup>a</sup>	0.726 ± 0.133	76.53**	1.939 ± 0.151	49.13**	1.180 ± 0.089	40.05**
Celery <sup>a</sup>	6.27 ± 0.468	-70.12**	27.31 ± 0.367	-720.0**	4.05 ± 0.113	-82.59**
S. chard <sup>a,c</sup>	5.04 ± 1.257	-37.55**	5.03 ± 0.187	-44.73**	1.71 ± 0.145	17.54**
WGJ <sup>b</sup>	3.62 ± 0.665		3.56 ± 0.580		2.12 ± 0.411	

a Data are presented as the means ± standard error of mean (n = 3)

b Data are presented as the mean ± standard deviation (n = 309)

c Swiss chard

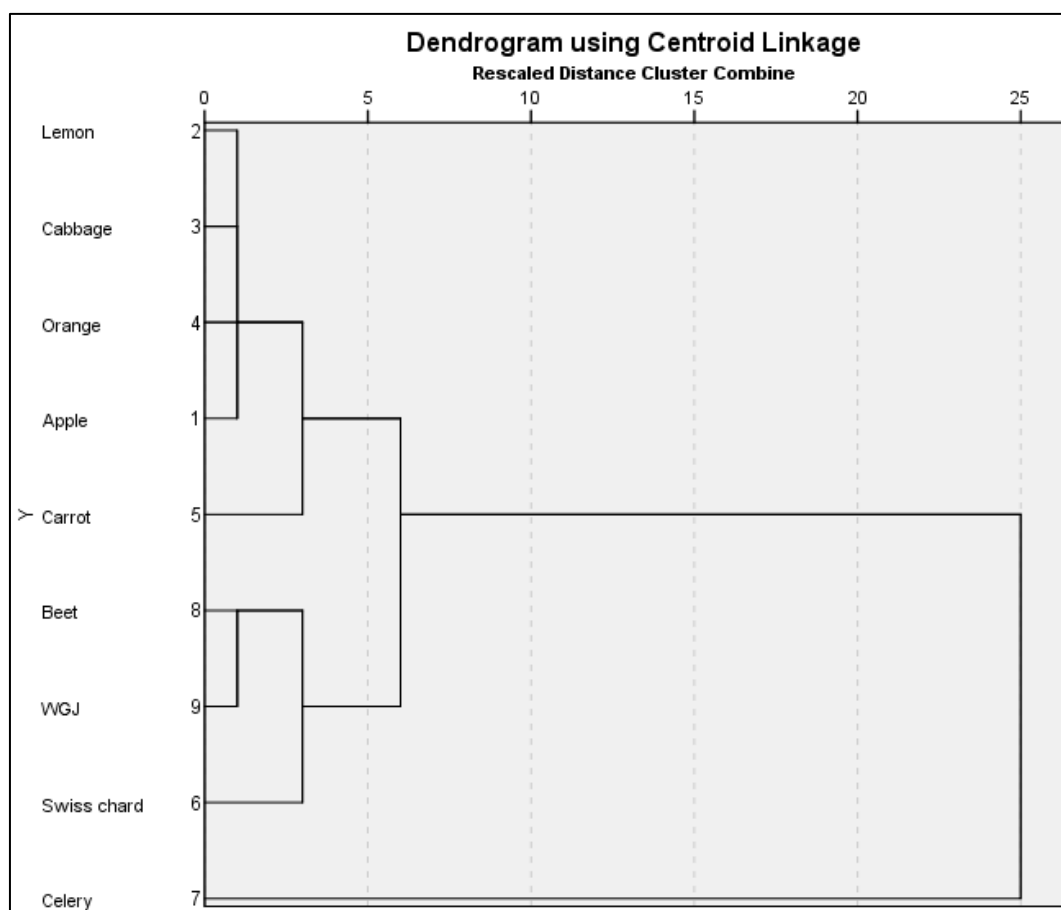
\*\* significant difference (p < 0.01); \* significant difference (p < 0.05); n.s. non-significant (p > 0.05)

Compared to the tested fruit and vegetable juices in total K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn concentration, WGJ showed highest similarity to Swiss chard and beet fresh juice (Table 4), and those juices were grouped in the same cluster (Graph 1). Apple, carrot, lemon, orange and cabbage juice were grouped together (Graph 1), and those juices showed lowest concentrations of examined minerals. Celery juice had highest Ca, Mg, Mn, Fe, and Zn concentrations in comparison to other juices, but extremely high Ca and Fe concentrations are reason why celery juice was separated from all other tested juices in cluster analysis (Graph 1).

Table 4 Proximity matrix (Squared Euclidean distance) for WGJ and other tested juices on the basis of K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn concentration

Beet	Swiss chard	Carrot	Orange	Lemon	Cabbage	Apple	Celery
1.20	2.34	5.34	6.81	7.29	8.65	11.92	20.50

A WGJ had higher mineral concentration than fruits, carrot and cabbage juices. Obtained results indicates that WGJ and green leafy vegetables are better sources of minerals than tested fruits, carrot and cabbage.



Graph 1 Hierarchical clustering of juices on the basis of K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn concentration. Juices are clustered according to Centroid method, and distance is calculated as Squared Euclidean distance.

The awareness of nutritional benefits of fresh juices led to rise in consumption of fresh fruit and vegetable juices according to Fruit and Vegetable Juice Market Size Analysis Report by Product (Fruit Juices, Fruit & Vegetable Blends, Vegetable Juices), By Region and Segment Forecasts, 2018 – 2025. (2018). According to our knowledge, this is the first research with an aim to compare mineral content in WGJ to mineral content of fruit and vegetable juices. There have been few researches conducted with an aim to evaluate sensory properties (Waghray et al., 2012) and organoleptic properties of WGJ with possibility to develop functional drinks as a mixture of WGJ and some fruit and vegetable juices (Abou-Raya et al., 2018, Ishak et al., 2018). Since many find a WGJ as not appealing for consumption, it is rather consumed in combination with some other juice than alone (Rexhepi-Hasani, 2015).

In the light of obtained results, we proposed WGJ as a good source of minerals, and speculate that addition of WGJ to other fruit or vegetable juice may improve mineral content of that juice. In addition, in such mixture not appealing taste of WGJ will be reduced to.

## Conclusions

Nutritional value of some fruits or vegetables depends on contents of large number of nutritionally important substances, such as vitamins, amino acid, antioxidants, enzymes and others. Therefore, overall nutritional value of some fruit or vegetable juice cannot be evaluated on the mineral content only. This research showed that WGJ is good source of K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn. WGJ has higher K, Ca, Mg, Mn, Fe and Zn concentration than apple, lemon, orange, carrot, and cabbage juice, furthermore it has higher Ca, Mg and Zn concentration than Swiss chard, and higher Ca, Mn and Fe concentration than beet juice. However, to evaluate complete nutritional value of WGJ in comparison to other fruit or vegetable juices, further research on content of other nutritionally important substances should be carried out.

## Acknowledgement

This work has been supported in part by Croatian Science Foundation under the project UIP-2017-05-4292.

## References

- Abou-Raya M.A., Ghoniem G. A., Hameed A.E. (2018). Organoleptic Properties and Acceptability of Fresh Beverages Using Wheat Grass Juice with some Fruit and Vegetable Juices. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 9(6): 189-192.
- Babitha G.A., Bansal M., Prakash S. (2019). Wheatgrass--A Wonder Herb against Periodontal Pathogens: An *In Vitro* Study. *Indian Journal of Dental Advancements*, 11(2): 58-61.
- Balakrishnan S. (2020). Review on: Growing a Glass of Rich Immune Booster at Your Home: *Triticum aestivum* L.(Wheat Grass) Beneficial Effect on Health in this Pandemic Scenario. *International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 7(5): 141-145.
- Bazzano L.A., Li T.Y., Joshipura K.J., Hu F.B. (2008). Intake of fruit, vegetables, and fruit juices and risk of diabetes in women. *Diabetes care*, 31(7): 1311-1317.
- Cene C.W., and Pignone M. (2011). The effect of fruit and vegetable intake on the incidence of diabetes. *Clinical Diabetes*, 29(3): 113-115.
- Clárk R.B. (1983). Plant genotype differences in the uptake, translocation, accumulation, and use of mineral elements required for plant growth. In *Genetic aspects of plant nutrition* (pp. 49-70). Springer, Dordrecht.
- Eissa H.A., Mohamed S.S., Hussein A.M. (2020). Nutritional value and impact of wheatgrass juice (Green Blood Therapy) on increasing fertility in male albino rats. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1): 1-11.

- Esfahani A., Wong J.M., Truan J., Villa C.R., Mirrahimi A., Srichaikul K., Kendall C.W. (2011). Health effects of mixed fruit and vegetable concentrates: a systematic review of the clinical interventions. *Journal of the American College of Nutrition*, 30(5): 285-294.
- Fruit and Vegetable Juice Market Size Analysis Report by Product (Fruit Juices, Fruit & Vegetable Blends, Vegetable Juices), By Region and Segment Forecasts, 2018 – 2025. (2018) (Available from: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/fruit-vegetable-juice-market>).
- Grubišić S., Orkić V., Guberac S., Petrović S., Lisjak M., Kristić M., Rebekić A. (2019). Optimal method of sowing wheat (*Triticum aestivum* L.) for growing wheatgrass. *Poljoprivreda*, 25(2): 31-37.
- Ishak H.G., Ashoush I.S., El-Hofi M.A., Raafat S.S. (2018). Protective role of pomegranate juice blended with wheatgrass and lemon extracts for relieve carbohydrate intolerance. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 26 (Special issue (2D)), 2439-2446.
- Kiefer I., Prock P., Lawrence C., Wise J., Bieger W., Bayer P., Rieder A. (2004). Supplementation with mixed fruit and vegetable juice concentrates increased serum antioxidants and folate in healthy adults. *Journal of the American College of Nutrition*, 23(3): 205-211.
- Kingston H.M., and Jassie L.B. (1986). Microwave energy for acid decomposition at elevated temperatures and pressures using biological and botanical samples. *Analytical chemistry*, 58(12): 2534-2541.
- Krośniak M., Gąstoł M., Szalkowski M., Zagrodzki P., Derwisz M. (2010). Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) juices as a source of minerals in human diet. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 73(17-18): 1155-1158.
- Kulkarni S.D., Acharya R., Nair A.G.C., Rajurkar N.S., Reddy A.V.R. (2006). Determination of elemental concentration profiles in tender wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) using instrumental neutron activation analysis. *Food Chemistry*, 95(4): 699-707.
- Kulkarni S.D., Tilak J.C., Acharya R., Rajurkar N.S., Devasagayam T.P.A., Reddy A.V.R. (2006). Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as a function of growth under different conditions. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(3): 218-227.
- Mensink G.B.M., Fletcher R., Gurinovic M., Huybrechts I., Lafay L., Serra-Majem L., Stephen A.M. (2013). Mapping low intake of micronutrients across Europe. *British journal of nutrition*, 110(4): 755-773.
- Milivojević J., Bošković-Rakočević L., Đekić V., Luković K., Simić Z. (2018). Cultivar-specific accumulation of iron, manganese, zinc and copper in winter wheat grain (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Central European Agriculture*, 19(2): 423-436.
- Muthayya S., Rah J.H., Sugimoto J.D., Roos F.F., Kraemer K., Black R.E. (2013). The global hidden hunger indices and maps: an advocacy tool for action. *PLoS One*, 8(6): e67860.
- Péter S., Eggersdorfer M., Van Asselt D., Buskens E., Detzel P., Freijer K., Obeid R. (2014). Selected nutrients and their implications for health and disease across the lifespan: a roadmap. *Nutrients*, 6(12): 6076-6094.
- Prynne C.J., Mishra G.D., O'Connell M.A., Muniz G., Laskey M.A., Yan L., Ginty F. (2006). Fruit and vegetable intakes and bone mineral status: a cross-sectional study in 5 age and sex cohorts. *The American journal of clinical nutrition*, 83(6): 1420-1428.
- Reddy A.V.R., Acharya R., Nair A.G.C., Kulkarni S.D., Rajurkar N.S. (2008). Studies on tender wheatgrass: estimation of elemental content, bioaccessibility of essential elements and antioxidant activity (No. BARC--2008/E/015). Bhabha Atomic Research Centre.
- Rexhepi-Hasani A. (2015). Consumer Acceptance and Readiness to Pay for Green Juices Containing Grain Grass Juices in Kosovo. *ANGLISTICUM. Journal of the Association-Institute for English Language and American Studies*, 4(6): 49-57.
- Samman S., Sivarajah G., Man J.C., Ahmad Z.I., Petocz P., Caterson I. D. (2003). A mixed fruit and vegetable concentrate increases plasma antioxidant vitamins and folate and lowers plasma homocysteine in men. *The Journal of nutrition*, 133(7): 2188-2193.
- Sareen M., Baghla P., Dhaka P., Mathur E., Sobti P., Khajuria S. (2014). Wheat grass-a wonder herb. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 5(1): 4.

- Skoczylas Ł., Korus A., Tabaszewska M., Gędoś K., Szczepańska E. (2018). Evaluation of the quality of fresh and frozen wheatgrass juices depending on the time of grass harvest. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1): e13401.
- Taylor C. Wallace, Regan L. Bailey, Jeffrey B. Blumberg, Britt Burton-Freeman, C-y. Oliver Chen, Kristi M. Crowe-White, Adam Drewnowski, Shirin Hooshmand, Elizabeth Johnson, RiSwiss chard Lewis, Robert Murray, Sue A. Shapses, Ding Ding Wang (2020). Fruits, vegetables, and health: A comprehensive narrative, umbrella review of the science and recommendations for enhanced public policy to improve intake, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (13): 2174-2211, DOI: 10.1080/10408398.2019.1632258
- Waghray K., Gulla S., Santhosh Kumar C., Praveen Kumar M., Akshay Kumar A. (2012). Sensory quality and acceptability of fresh juices. *Studies on Home and Community Science*, 6 (3): 179-181.
- Wakeham P. (2013). The medicinal and pharmacological screening of wheatgrass juice (*Triticum aestivum* L.): an investigation into chlorophyll content and antimicrobial activity. *The Plymouth Student Scientist*, 6: 20-30.

## **Nutritivna vrijednost soka od pšenične trave – procjena na temelju koncentracije minerala**

### **Sažetak**

Cilj provedenog istraživanja bio je utvrditi nutritivnu vrijednost soka pšenične trave u odnosu na svježi sok od jabuke, mrkve, cikle, limuna, naranče, kupusa, blitve i celera na temelju koncentracija K, Ca, Mg, Mn, Fe i Zn. Koncentracije elemenata u sokovima utvrđene su pomoću ICP - OES tehnike. Na temelju t testa za jedan uzorak ( $p < 0,05$ ) utvrđeno je da sok pšenične trave ima značajno više koncentracije svih ispitivanih elemenata u odnosu na sok od jabuke, mrkve, limuna, naranče i kupusa. Hijerarhijskom klaster analizom, sok pšenične trave svrstan je u klaster sa sokom blitve i cikle, kojima je najbliži po koncentracijama ispitivanih elemenata. Dobiveni rezultati ukazuju na to da je sok pšenične trave vrijedan izvor minerala te bi ga zbog toga trebalo uvrstiti u svakodnevnu prehranu, zajedno s uobičajeno korištenim sokovima.

**Ključne riječi:** pšenična trava, funkcionalna hrana, bioraspoloživost, nedostatak minerala



## Genetski izvori divlje loze (*Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris*) u Hrvatskoj

Goran Zdunić<sup>1</sup>, Katarina Lukšić<sup>1</sup>, Ana Mucalo<sup>1</sup>, Irena Budić-Leto<sup>1</sup>, Katarina Hančević<sup>1</sup>, Tomislav Radić<sup>1</sup>, Lukrecija Butorac<sup>1</sup>, Maja Žulj Mihaljević<sup>2</sup>, Edi Maletić<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Institut za jadranske kulture i melioraciju krša, Put Duilova 11, Split Hrvatska  
(goran.zdunic@krs.hr)

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Znanstveni centar izvrsnosti za bioraznolikost i molekularno oplemenjivanje bilja (ZCI CroP-BioDiv), Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Hrvatska ima bogate izvore germplazme kultivirane loze. Veliki broj autohtonih sorata je u komercijalnom uzgoju zahvaljujući dugoj tradiciji uzgoja, povoljnom geografskom položaju, te povjesnoj cirkulaciji materijala. Nasuprot kultiviranoj lozi, divlja loza (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* Gmel Hegi) nije bila zanimljiva za komercijalnu proizvodnju pa je vremenom potpuno zanemarena što je rezultiralo s vrlo slabim poznavanjem ovih genetskih izvora u Hrvatskoj. Unutar istraživačkih aktivnosti projekta WI.GRA.GENE podržanog od strane Hrvatske zaklade za znanost istražene su prirodne populacije divlje loze u Hrvatskoj tijekom 2015. - 2018. godine. Određene istraživačke aktivnosti su nastavljene u okviru drugih projekata i nakon formalnog zatvaranja HRZZ projekta. Glavni ciljevi WI.GRA.GENE projekta su bili identificirati preostale populacije divlje loze u Hrvatskoj, te istražiti njene fenotipske i genetske karakteristike. Korištene su moderne metode DNA genotipizacije, kemijske metode za determinaciju specifičnih fenolnih sastojaka u grožđu, te standardni morfološki deskriptori. Rezultati sugeriraju značajnu genetsku vrijednost hrvatske germplazme divlje loze, te pružaju potrebne informacije za njeno očuvanje, te upotrebu u oplemenjivanju i modernom vinogradarstvu.

**Ključne riječi:** *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*, *Vitis vinifera* subsp. *vinifera*, genetska raznolikost, Hrvatska, SSR markeri

### Uvod

Euroazijska loza (*Vitis vinifera* L.) uključuje dvije podvrste: divlju (*Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris* Hegi Gmelin) i kultiviranu lozu (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*). Obje podvrste su diploidne (2n = 38), seksualno kompatibilne, te preferiraju stranooplodnju. Divlja loza je dvodomna i smatra se da je predak kultivirane vinove loze (This i sur., 2006.). Staništa divlje loze su relativno netaknute šume s obiljem vode u blizini. Raste od Portugala do Turkmenistana, te od obala rijeke Rajne do šuma na sjeveru Tunisa (Levadoux 1956., Arnold i sur., 1998.).

Ugroženost prirodnih populacija divlje loze u Europi kreće s početkom intenzivnog uređenja obala rijeka, zatim urbanizacije naselja (kraj 19. i početak 20. stoljeća), te općenito ljudskog pritiska na prirodne resurse (Arnold i sur., 1998.). Pretpostavlja se da je divlja loza pretrpila značajan gubitak genetske raznolikosti uslijed efekta populacijskog uskog grla, te prirodne hibridizacije s kultiviranom vinovom lozom (Di Vecchi-Staraz i sur., 2009., Arnold i sur., 2017.). Mnoge europske zemlje poput Italije, Portugala i Španjolske su pokrenule istraživačke projekte na divljoj lozi (Grassi i sur., 2003., Lopes i sur., 2009., De Andres i sur., 2012.) kako bi istražili genetsku raznolikost i povezanost s autohtonim kultiviranim sortimentom. Literaturni tragovi o divljoj lozi u Hrvatskoj potvrđuju njenu dugu prisutnost i zapaženu zastupljenost. Pisani trag o nazočnosti divlje loze na ovim područjima nalazi se u Rječniku poljoprivrednog bilja (Šulek, 1879.), u kojem se navodi hrvatsko ime za divlju

lozu: vinika ili vinjaga. Detaljnije je opisana populacija u blizini rijeke Neretve u Hercegovini (Turković i Aničić-Bošnjak, 1953., Turković i Sučević Šafar, 1953.). Od tada nije bilo sustavnih istraživanja divlje loze u Hrvatskoj, ali niti u ostalim susjednim zemljama.

S gospodarskog gledišta i direktne upotrebe grožđa, divlja loza nema gotovo nikakvu vrijednost. Urod je izuzetno mali i može se naći samo na ženskim jedinkama kojih u populaciji ima značajno manje u odnosu na muške. Grozdovi su mali i rehljavni, a bobice imaju vrlo malo soka. Šećeri su u pravilu niski, a kiseline izrazito visoke. Općenito, bobice divlje loze su obojene antocijanima, crne ili crvene boje kože. Genetske karakteristike divlje loze s različitih geografskih područja su prilično dobro istražane upotrebom SSR i SNP markera (Myles i sur., 2011., Riaz i sur., 2018.), dok je fenotipska varijabilnost opisana tek za manji broj populacija (Ocete i sur., 2011., Benito i sur., 2017.).

Divlja loza nije prošla kroz strogi selekcijski pritisak od strane ljudi kao kultivirana loza, stoga postoji velika mogućnost da još uvijek sadrži faktore adaptibilnosti i druge korisne gene koji bi se mogli iskoristiti u modernom oplemenjivanju.

Cilj ovoga rada je prikazati genetske izvore divlje loze u Hrvatskoj temeljem rezultata koji su dobiveni u okviru istraživačkih aktivnosti projekta WI.GRA.GENE (HRZZ, UIP2014-09-9737) i suradnje s domaćim i međunarodnim znanstvenicima. U projektu su sudjelovali istraživači Instituta za jadranske kulture i melioraciju krša, Agronomskog fakulteta iz Zagreba, Federalnog Agromediteranskog zavoda iz Mostara u Bosni i Hercegovini, te Julius Kuehn Instituta u Njemačkoj.

### **Identifikacija primki divlje loze na prirodnim staništima i fenotipska varijabilnost**

Tijekom istraživačkih aktivnosti identificirano je sedam prirodnih populacija divlje loze u Hrvatskoj. Gizdovac, Grab, Modro jezero, Krka i Paklenica u primorskom, te Lukovdol i Psunj u kontinentalnom području Hrvatske. Krka i Paklenica pripadaju zaštićenim područjima u kategoriji hrvatskih nacionalnih parkova. Modro jezero je zaštićeno područje kao spomenik prirode, dok ostali lokaliteti nemaju posebnu kategoriju zaštite prirode u smislu Zakona o zaštiti prirode (NN 80/13, 15/18, 14/19, 127/19), te je u njima dopuštena određena gospodarska aktivnost. Posebno ugroženi lokaliteti za očuvanje genetske raznolikosti divlje loze su oni gdje je dopuštena određena gospodarska aktivnost kao što je uzgoj i sječa šume (Lukovdol, Psunj) ili pak potpuna izmjena namjene područja kao što je slučaj kod lokaliteta Gizdovac pri čemu se prirodno krško područje pretvara u gospodarsko-industrijsku zonu. Na svim istraživanim lokalitetima utvrđena je neposredna blizina površinskih tokova rijeka, potoka i jezera. Divlja loza preferira vlažna staništa i to pravilo vrijedi gotovo za sve preostale populacije u Europi (Arnold i sur., 2017.). Raste kao penjačica pri čemu za svoj vertikalni rast koristi različite drvenaste biljke kao naslon. Na svim istraživanim lokalitetima utvrđen je značajan stupanj antropogenizacije. Urađena je detaljna inventarizacija drvenastih biljnih vrsta koje rastu u neposrednoj blizini jedinki divlje loze (Butorac i sur., 2018.).

Očuvanje genetske raznolikosti divlje loze obavlja se na dvije razine: i) na prirodnim staništima *in situ*, ii) u germplazm kolekcijama *ex situ*. Očuvanje divlje loze na prirodnim staništima je vrlo kompleksno i ovisi o nizu čimbenika, te zahtjeva uključenost različitih dionika. Za agronomsku praksu izuzetno je važno očuvanje genetske raznolikosti divlje loze u *ex situ* germplazm kolekcijama. Preporučuje se razmnožavanje vegetativnim načinom radi potpune genetske očuvanosti matične jedinke, ali u određenim slučajevima razmnožavanje se može provesti i sjemenom, no u tom slučaju preporučljivo je provesti *true to type*

evaluaciju nove biljke radi slobodne oplodnje i mogućeg dotoka polena izvan populacija divlje loze od strane *ne-sylvestris* jedinki.

U sklopu međunarodne suradnje u okviru Europskog kooperativnog programa za biljne genetske izvore (engl. *European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources – ECPGR*), naš tim je koordinirao *InWiGrape* projekt s ciljem harmonizacije protokola za identifikaciju divlje loze, te optimizacije mjera za njezino očuvanje. U *InWiGrape* je sudjelovalo 16 europskih institucijskih partnera iz 11 zemalja. Producirana je interaktivna mapa distribucije preostalih populacija u Europi koja je dostupna na web stranici *European Vitis Database* (<http://www.eu-vitis.de/index.php>), te je predložen set od 25 morfoloških markera za identifikaciju divlje loze (Zdunić i sur., 2017a.). Molekularna analiza trebala bi slijediti nakon morfološke koristeći standardni set od devet SSR (engl. *Simple Sequence Repeats*) markera (VVMS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62, VrZAG79, VVMD25, VVMD28, VVMD32) usuglašen unutar projekta GrapeGen06 kao standardni set za identifikaciju vinove loze.

Morfološka sličnost divlje i kultivirane loze je vrlo velika. Osnovni razlikovni element između divlje i kultivirane loze je tip cvijeta (OIV151). Divlja loza je dvodomna i ima jedinke sa ženskim i muškim tipom cvijeta, dok je kultivirana loza većinom hermafroditna. Prilično velik problem u identifikaciji divlje loze čine tzv. feralne jedinke koje ne pripadaju *true to type* divljoj lozi, a mogu se naći unutar njihovih populacija. Feralne jedinke uključuju pobjeglu kultiviranu lozu, lozne podloge ili različite hibridne jedinke nastale oplodnjom divlje s kultiviranom lozom ili loznim podlogama. Problem taksonomskog onečišćenja unutar prirodnih populacija divlje loze vrlo je izražen više-manje u svim euroazijskim populacijama (Grassi i sur., 2003., Di Vecchi-Staraz i sur., 2009., Lopes i sur., 2009., Zecca i sur., 2010., Arnold i sur., 2017.) i to naročito u populacijama koje su u bliskim kontaktnim zonama s poljoprivrednim područjima. U našem istraživanju, najveći broj feralnih jedinki smo pronašli na Krki i Modrom jezeru.

Usljed visokog stupnja polimorfizma kod loze, morfološke karakteristike listova i grozdova mogu značajno varirati, a sama procjena je opterećena iskustvom i subjektivnom procjenom ampelografa. Zboga toga je identifikacija divlje loze vrlo zahtjevna i u pravilu se zasniva na komplementarnom pristupu morfoloških i DNA analiza.

### **Genetska varijabilnost**

U genotipizaciji divlje loze najčešće se koriste SSR markeri koji su se pokazali vrlo informativni u procjeni genetske raznolikosti. Posljednjih godina koriste se i SNP (engl. *Single nucleotide polymorphism*) markeri i to naročito u studijama gdje je pored procjene genetske raznolikosti potrebna i informacija o kodirajućim regijama za određena svojstva (Myles i sur., 2011.; Marrano i sur., 2018.).

Divlja loza je jasno genetski distancirana od kultivara i ostalih *Vitis* vrsta, iako je međusobna veza unutar roda *Vitis*, naročito između divlje i kultivirane loze, vrlo kompleksna radi dugotrajne koegzistencije na istom prostoru, te procesa domestikacije (Aradhya i sur., 2013.). Di Vecchi-Staraz i sur. (2009) su detektirali postojanje protoka gena između kultivirane i divlje loze procjenjujući da oko 3 % polena migrira između kultiviranih vinograda i obližnjih populacija divlje loze. Ovaj protok gena ima značajan utjecaj na evoluciju populacija divlje loze. Protok gena između divlje i kultivirane loze je dokumentiran u više geografskih regija kao što je Italija (Zecca i sur., 2010.), Španjolska (De Andrés i sur., 2012.) i Gruzija (Ekhvaia i sur., 2014.). Relativno izolirana divlja loza na

Siciliji pokazala je vrlo blisku genetsku vezu s lokalnim kultivarima (De Michele i sur., 2019.), dok, općenito, grupa zapadno europskih sorata pokazuje bliži genetski afinitet s divljom lozom nego istočne sorte (Myles i sur., 2011., Zdunić i sur., 2013., Riaz i sur., 2018.). Genetska raznolikost divlje loze je niža nego kod kultivirane (Grassi i sur. 2003., Di Vecchi-Staraz i sur., 2009., Lopes i sur. 2009., Zecca i sur. 2010.). Ovo se može objasniti s relativno malim, izoliranim populacijama divlje loze, unutar kojih dolazi do veće stope križanja u srodstvu (inbreedinga), te gubitka alela i heterozigotnosti.

Naš tim je objavio prve rezultate genetske raznolikosti divlje loze pomoću SSR markera iz Hrvatske i Bosne i Hercegovine (Zdunić i sur., 2017b.). Primke divlje loze jasno su se genetski razlikovale od seta kultivirane loze i loznih podloga. Genetska povezanost divlje loze s naših prostora (uglavnom s Krke i Neretve) s ostalim euroazijskim populacijama ispitana je u združenoj studiji koja je obuhvatila 1378 uzoraka divlje i kultivirane loze s područja Mediterana (Riaz i sur., 2018.). Naše jedinke divlje loze su bile bliske s jedinkama europske divlje loze iz Francuske, Italije i Španjolske upućujući na njihov zajednički genski bazen. Zabilježena je određena bliskost i s uzorcima gruzijske divlje loze. Nedavno smo proveli studiju genetske raznolikosti uzoraka divlje i kultivirane loze s područja Hrvatske i susjednih zemalja (Bosne i Hercegovine, Slovenije, Mađarske), te Njemačke (Zdunić i sur., 2020.). Utvrdili smo blisku genetsku vezu između istraživanih populacija divlje loze, te afinitet divlje loze s određenim brojem zapadno europskih kultivara što bi moglo upućivati na njihovo zajedničko podrijetlo.

Pored nuklearne DNA genotipizacije, koristan alat za istraživanje raznolikosti divlje loze su kloroplastne (cp) varijacije genoma. Moderne sorte vinove loze imaju složenu povijest širenja područjima uzgoja, koji otežava prepoznavanje jasnog geografskog trenda u njihovoj distribuciji (Sefc i sur., 2000.). Kloroplastni genom ima sporiji stupanj evolucije nego nuklearni (Provan i sur., 1999.), čineći cpDNA polimorfizam prikladnim za istraživanje podrijetla divlje loze. Kloroplastni genom se nasljeđuje po majci (Arroyo-García i sur., 2002.) i ostaje nepromjenjen tijekom hibridizacije s drugim biljkama što omogućuje istraživanje domestikacijskih događaja. Ovaj pristup je uspješno implementiran u detekciji neovisnih događaja domestikacije vinove loze (Arroyo-García i sur., 2006.). Naš tim je istražio polimorfizam na devet cpDNA mikrosatelitskih lokusa (cpSSR3, cpSSR5, cpSSR10, NTCP8, NTCP12, ccSSR5, ccSSR9, ccSSR14, ccSSR23) pri čemu su jedinke grupirane u dva klorotipa: A i D (Butorac i sur., 2018.). D je rijetki haplotip među divljim populacijama na europskom kontinentu. Prisutnost i učestalost klorotipova A i D na hrvatskom i bosanskohercegovačkom teritoriju kao i na Apeninskom poluotoku navode nas na zaključak da su ta područja nekada bila povezana područja za divlju lozu. Moguće je pretpostaviti na temelju naših rezultata da je istočni Jadran imao ulogu utočišta za divlju lozu tijekom posljednje glacijacije jer populacije divlje loze u zapadnoj Europi (Njemačka, Francuska, Španjolska) sadrže nižu klorotipnu varijabilnost pri čemu je u tim populacijama zabilježen samo klorotip A.

### **Oplemenjivački potencijal divlje loze**

Kod vinove loze su se dogodile velike promjene tijekom domestikacije u pogledu boje, veličine i oblika bobica, sadržaja šećera. Najznačajnija promjena je prelazak s dvodomnog seksualnog sistema na hermafroditni. Ljudi su selekcionirali vinovu lozu da bi dobili visoki urod i brzi rast pri čemu su uslijed favoriziranja proizvodnih svojstava izgubljeni faktori adaptibilnosti (Grassi i Arroyo-García, 2020.). Izuzetno je važno identificirati faktore adaptibilnosti koji bi se mogli implementirati u oplemenjivanjivačke strategije za pripremu na izazove klimatskih promjena. Dosadašnja istraživanja su pokazala da divlja loza sadrži

mnoga korisna svojstva. Divlja loza sjeverno afričkih populacija pokazala je tolerantnost na salinitet tla i tolerantnost na izrazito sušne uvjete (Azri i sur., 2020.). Pored toga, divlja loza bi mogla imati tolerantnost na virusna oboljenja, čak i tolerantnost na filokseru (Ocete i sur., 2011.), iako ranija istraživanja generalno navode nedovoljnu otpornost divlje loze na filokseru.

### **Rezistentnost na gljivične bolesti**

Postoji nekoliko poznatih izvora gena otpornosti na pepelnicu za oplemenjivanje vinove loze: Ren 4 iz *V. romanetti*, Run 2.1 i Run 2.2 iz *Muscadinia rotundifolia* (2n=40), i Ren 1 iz *V. vinifera* cv. Kishmish vatkana. Posebno važan izvor je Ren 1, pronađen u kultiviranoj lozi (Hoffmann i sur., 2008.), radi transfera ostalih svojstava svojstvenih kultiviranoj lozi prilikom seksualne rekombinacije i klasičnih metoda oplemenjivanja. SSR marker aleli povezani s Ren 1, UDV124-alel 216, i VMCNg4e10.1-alel 260 su pronađeni kod određenih primki divlje loze (Riaz i sur., 2013.). Nedavno istraživanje Riaz i sur. (2020.) otkriva nove primke divlje loze s rezistentnošću na pepelnicu u istočnim populacijama divlje loze, te još neke SSR markere s dijagnostičnim potencijalom za identifikaciju rezistentnih alela. Regija Ren1 kod sorte Kishmish vatkana homologna je regiji Ren1 kod divlje loze. Lokus Ren1 nalazi se na kromosomu 13, monogenske je segregacije s jednim dominantnim lokusom. Naš tim je pronašao djelomičnu otpornost na pepelnicu kod nekolicine hrvatskih primki divlje loze i rezistentne alele na odgovarajućim SSR markerima unutar Ren1 regije (Lukšić i sur., u pripremi).

### **Boja kože bobica i antocijanski profil**

Važan aspekt oplemenjivanja vinove loze uključuje boju kože bobica i antocijane. U kultiviranoj lozi, antocijani su prisutni u kožici kao monoglukozidi metoksiliranih i/ili hidroksiliranih antocijanidina (Mazza, 1995., He i sur., 2010.). Monoglukozidni oblici antocijana mogu biti acilirani s octenom, kavnom ili p-kumarnom kiselinom. Antocijanski profil je specifičan za određenu sortu i može se koristiti kao kemo-taksonomski kriterij za klasifikaciju obojenih sorti vinove loze (Gonzalez-San Jose i sur., 1990., Eder i sur., 1994.). Nedavno istraživanje populacije divlje loze u Španjolskoj pokazalo je da neke primke divlje loze ne sadrže acilirane antocijane (Revilla i sur., 2012.). Nedostatak aciliranih antocijana je rijedak kod kultiviranih sorti, iako nije kompletno odsutan. Naša istraživanja otkrila su značajan udio delfinidin 3-glukozida u antocijanskom profilu kože bobica kod hrvatskih primki divlje loze, dok su dvije primke pokazale odsutnost aciliranih formi antocijana (Budić-Leto i sur., 2018.).

### **Mikorize**

Iako je za kultiviranu vinovu lozu utvrđeno da je izrazito sklona tvoriti mikoriznu simbiozu i da time može poboljšati svoju mineralnu ishranu i otpornost na abiotički i biotički stres (Schreiner 2005., Trouvelot i sur. 2015.), gljive korijena divlje loze su prethodno bile gotovo potpuno neistražene. Naš tim je objavio prve rezultate prisutnosti arbuskularnih mikoriznih gljiva u korijenu divlje loze i pokazao izrazito visoku koloniziranost, u rasponu 90-100 % (Radić i sur., 2018.). Ovi rezultati su značajno viši u odnosu na kultiviranu lozu iz istog klimatskog područja južne Hrvatske, bilo da je riječ o konvencionalnim vinogradima (prosječna koloniziranost 40-50 %) ili o ekološkim vinogradima (do 70 %) (Radić i sur., 2014.). Osim navedenog tipa simpcionata, istražili smo i bioraznolikost i distribuciju različitih tipova gljiva na korijenu divlje loze, s obzirom da gljive mogu pripadati vrlo različitim funkcionalnim grupama, te utvrdili široku taksonomsku raznolikost mikoriznih, patogenih,

endofitskih i saprofitskih gljiva (Radić i sur., u postupku recenzije), koje s biljkom domaćinom mogu tvoriti širok raspon interakcija (Porras-Alfaro i Bayman, 2011.). U slučaju divlje loze smo potvrdili načelnu pojavnost da divlje biljke često sačuvaju široki spektar korisnih endofitskih simbiotskih mikroorganizama, koji se ne mogu naći ili su slabo zastupljeni u njihovih kultiviranih rođaka (Ofek-Lalzar i sur., 2016.), što bi moglo omogućiti potencijal buduće primjene u održivim praksama u vinogradarstvu.

## Zaključak

Hrvatske populacije divlje loze predstavljaju značajne izvore genetske varijabilnosti koje vrijedi sačuvati i nastaviti istraživati, naročito u svjetlu klimatskih promjena i identifikacije faktora adaptibilnosti i ostalih gena koji su od interesa za oplemenjivanje vinove loze. Divlja loza raste na staništima uz rijeke, jezera ili potoke pri čemu je vidljiv značajan antropogeni utjecaj na njihove populacije i staništa. Rezultati dobiveni unutar projekta WI.GRA.GENE pružaju potrebne informacije za zaštitu divlje loze.

## Literatura

- Aradhya M., Wang Y., Walker M.A., Prins B.H., Koehmstedt A.M., Velasco D., Gerrath J.M., Dangl G.S., Preece J.E. (2013). Genetic diversity, structure, and patterns of differentiation in the genus *Vitis*. *Plant Syst Evol.* 299: 317–330.
- Arnold C., Bachmann O., Schnitzler A. (2017). Insights into the *Vitis* complex in the Danube floodplain (Austria). *Ecol. Evol.* 7: 7796–7806.
- Arnold C., Gillet F., Gobat J.M. (1998). Situation de la vigne sauvage *Vitis vinifera* ssp. *silvestris* en Europe. *Vitis.* 41: 159–170.
- Arroyo-García R., Lefort F., de Andrés M.T., Ibáñez J., Borrego J., Jouve N., Cabello F., Martínez-Zapater J.M. (2002). Chloroplasts microsatellite polymorphisms in *Vitis* species. *Genome.* 45: 1142-1149.
- Arroyo-García R., Ruiz-García L., Bolling L., Ocete R., López M.A., Arnold C., Ergul A., Söylemezoğlu G., Uzun H.I., Cabello F., Ibáñez J., Aradhya M.K., Atanassov A., Atanassov I., Balint S., Cenis J.L., Costantini L., Goris-Lavets S., Grando M.S., Klein B.Y., McGovern P.E., Merdinoglu D., Pejic I., Pelsy F., Primikirios N., Risovannaya V., Roubelakis-Angelakis K.A., Snoussi H., Sotiri P., Tamhankar S., This P., Troshin L., Malpica J.M., Lefort F., Martínez-Zapater J.M. (2006). Multiple origin of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Molecular Ecology.* 15: 3707-3714.
- Azri W., Cosette, P., Guillou C., Rabhi M., Nasr Z., Mliki A. (2020). Physiological and proteomic responses to drought stress in leaves of two wild grapevines (*Vitis sylvestris*): a comparative study. *Plant Growth Regulation.* 1-16.
- Benito A., Muñoz-Organero G., De Andrés M.T., Ocete R., García-Muñoz S., López M.A., Arroyo-García R., Cabello F. (2017). *Ex situ* ampelographical characterisation of wild *Vitis vinifera* from fifty-one Spanish population. *Aust. J. Grape Wine Res.* 23: 143-152.
- Budić-Leto I., Mucalo A., Ljubenkov I., Zdunić G. (2018). Anthocyanin profile of wild grape *Vitis vinifera* in the eastern Adriatic region. *Scientia Horticulturae.* 238: 32-37.
- Butorac L., Hančević K., Lukšić K., Škvorc Ž., Leko M., Maul E., Zdunić G. (2018). Assessment of wild grapevine (*Vitis vinifera* ssp. *silvestris*) chlorotypes and accompanying woody species in the Eastern Adriatic region. *Plos One.* 13(6): 1-14.
- De Andrés M.T., Benito A., Perez-Rivera G., Ocete R., Lopez M.A., Gaforio L., Munoz G., Cabello F., Martinez-Zapater J.M., Arroyo-Garcia R. (2012). Genetic diversity of wild grapevine populations in Spain and their genetic relationship with cultivated grapevines. *Molecular Ecology.* 21: 800-816.
- De Michele R., La Bella F., Gristina A.S., Fontana I., Pacifico D., Garfi G., Motisi A., Crucitti D., Abbate L., Carimi F. (2019). Phylogenetic Relationship Among Wild and Cultivated Grapevine in Sicily: A Hotspot in the Middle of the Mediterranean Basin. *Front. Plant. Sci.* 10:1506.

- Di Vecchi-Staraz M., Lucou V., Bruno G., Lacombe T., Gerber S., Bourse T., Boselli M., This P. (2009). Low level of Pollen-mediated gene flow from cultivated to wild grapevine: consequences for the evolution of the endangered subspecies *Vitis vinifera* L. ssp. *silvestris*. *Journal of Heredity*. 100: 66–75.
- Eder R., Wendelin S., Barna J. (1994). Classification of red wine cultivars by means of anthocyanin analysis. *Mitt. Klosterneuburg*. 44: 201-212.
- Ekhvaia J., Gurushidze M., Blattner F.R., Akhalkatsi M. (2014). Genetic diversity of *Vitis vinifera* in Georgia: relationships between local cultivars and wild grapevine, *V. vinifera* L. subsp. *sylvestris*. *Genet Resour Crop Ev*. 61:1507-1521.
- Gonzalez-San Jose M.L., Santa-Maria G., Diez C. (1990). Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, wine-growing region, and wine-making methods. *Journal of food composition and analysis*. 3: 54-66.
- Grassi F., and Arroyo-Garcia R. (2020). Origins and Domestication of the Grape. *Frontiers in Plant Science*. 11: 1176.
- Grassi F., Labra M., Imazio S., Spada A., Sgorbati S., Scienza A., Sala F. (2003). Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis. *Theoretical and Applied Genetics*. 107: 1315-1320.
- He F., Mu L., Yan G.L., Liang N., Pan Q.H., Wang J., Reeves M.J., Duan C. (2010). Biosynthesis of Anthocyanins and Their Regulation in Colored Grapes. *Molecules*. 15: 9057-9091.
- Hoffmann, S., Di Gaspero, G., Kovács, L., Howard, S., Kiss, E., Galbács, Z., Testolin, R., Kozma, P. (2008). Resistance to *Erysiphe necator* in the grapevine Kishmish vatkana is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth. *Theoretical and Applied Genetics*, 116: 427-438.
- Levadoux L. (1956). Les populations sauvages et cultivées de *Vitis vinifera* L.. *Annales Amelloration del Plante*. 1: 59–118.
- Lopes M.S., Mendonca D., Rodrigues dos Santos J.E., Eiras-Dias J.E., da Camara Machado A. (2009). New insights on the genetic basis of Portuguese grapevine and on grapevine domestication. *Genome*. 52: 790–800.
- Marrano A., Micheletti D., Lorenzi S., Neale D., Grande M.S. (2018). Genomic signatures of different adaptations to environmental stimuli between wild and cultivated *Vitis vinifera* L. *Horticulture Research*. 5:34.
- Mazza G. (1995). Anthocyanins in Grapes and Grape Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 35: 341-371.
- Myles S., Boyko A.R., Owens C. L., Brown P.J., Grassi F., Aradhya M.K., Prins B., Reynolds A., Chia J., Ware D., Bustamante C.D., Buckler, E.S. (2011). Genetic structure and domestication history of the grape. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108: 3530–3535.
- Narodne novine (2013). *Zakon o zaštiti prirode*. Zagreb, Narodne novine d.d. 80/13, 15/18, 14/19, 127/19.
- Ocete R., Arroyo-Garcia R., Morales M.L., Cantos M., Gallardo A., Perez M.A., Lopez M.A. (2011). Characterization of *Vitis vinifera* L. subspecies *sylvestris* (Gmelin) Hegi in the Ebro river Basin (Spain). *Vitis*. 50: 11-16.
- Ofek-Lalzar M., Gur Y, Ben-Moshe S., Sharon O., Kosman E., Mochli E., Sharon A. (2016). Diversity of fungal endophytes in recent and ancient wheat ancestors *Triticum dicoccoides* and *Aegilops sharonensis*. *FEMS Microbiology Ecology*. 92 (10): 1-11.
- Porrás-Alfaro A., and Bayman P. (2011). Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annual Reviews of Phytopathology*. 49: 24.1-24.25.
- Provan J., Soranzo N., Wilson N.J., Goldstein D.B., Powell W. (1999). A low mutation rate for chloroplast microsatellites. *Genetics*. 153: 943-947.
- Radić T., Hančević K., Likar M., Regvar M., Zdunić G. (2018). High incidence of arbuscular mycorrhizal fungi in rare and endangered wild grapevine. *Plant Biosystems*. 152(5): 1075–1078.
- Radić T., Likar M., Hančević K., Bogdanović I., Pasković I. (2014). Occurrence of root endophytic fungi in organic versus conventional vineyards on the Croatian coast. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 192: 115–121.

- Revilla E., Carrasco D., Carrasco V., Benito A., Arroyo-García R. (2012). On the absence of acylated anthocyanins in some wild grapevine accessions. *Vitis*. 51: 161–165.
- Riaz S., Boursiquot J.M., Dangl G.S., Lacombe T., Laucou V., Tenschler A.C., Walker, M. A. (2013). Identification of mildew resistance in wild and cultivated Central Asian grape germplasm. *BMC Plant Biology*. 13:149.
- Riaz, S., De Lorenzis G., Velasco D., Koehmstedt A., Maghradze D., Bobokashvili Z., Musayev M., Zdunic G., Laucou V., Walker A.M., et al. (2018). Genetic diversity analysis of cultivated and wild grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions around the Mediterranean basin and Central Asia. *BMC Plant. Biol.* 18: 137.
- Riaz S., Menéndez C.M., Tenschler A., Pap D., Walker M.A. (2020). Genetic mapping and survey of powdery mildew resistance in the wild Central Asian ancestor of cultivated grapevines in Central Asia. *Horticulture Research*. 7(1): 1-15.
- Schreiner R.P. (2005). Mycorrhizas and mineral acquisition in grapevines. U: Christensen, L.P., Smart, D.R. (Eds.) Proceedings of the soil environment and vine mineral nutrition symposium. *Am. J. Enol. Viticult.* 49–60.
- Sevc K.M., Lopes M.S., Lefort F., Botta R., Roubelakias-Angelakis K.A., Ibanez J., Pejic I., Wagner H.W., Glossl J., Steinkellner H. (2000). Microsatellites variability in grapevine cultivars from different European regions and evolution of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*. 100: 498–505.
- Šulek B. (1879). Jugoslavenski imenik bilja. *Dion. Tisk.*
- This P., Lacombe T., Thomas M.R. (2006). Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics*. 22: 511-519.
- Trouvelot S., Bonneau L., Redecker D., van Tuinen D., Adrian M., Wipf D. (2015). Arbuscular mycorrhiza symbiosis in viticulture: a review. *Agronomy for Sustainable Development*. 35: 1449-1467.
- Turković Z., and Aničić Bošnjak Z. (1953). *Vitis vinifera* subspecies *silvestris* Gmel. *Agronomski glasnik*. 9: 657-670.
- Turković Z., and Sučević Šafar, O. (1953). Analize *Vitis silvestris*. *Agronomski glasnik*. 11-12: 817-824.
- Zdunić G., Lukšić K., Nagy Z.A., Mucalo A., Hančević K., Radić T., Butorac L., Jahnke, G.G., Kiss E., Ledesma-Krist G., Regvar M., Likar M., Piltaver A., Žulj Mihaljević M., Maletić E., Pejić I., Werling M., Maul E. (2020). Genetic Structure and Relationships among Wild and Cultivated Grapevines from Central Europe and Part of the Western Balkan Peninsula. *Genes*. 11: 962.
- Zdunić G., Maul E., Eiras Dias J.E.J., Muñoz Organero G., Carka F., Maletić E., Savvides S., Jahnke G.G., Nagy Z.A., Nikolić, D., Ivanišević D., Beleski K., Maraš V., Mugoša M., Kodzulović V., Radić T., Hančević K., Mucalo A., Lukšić K., Butorac L., Maggioni L., Schneider A., Schreiber T., Lacombe T. (2017a). Guiding principles for identification, evaluation and conservation of *Vitis vinifera* subsp. *silvestris*. *Vitis*. 56: 127-131.
- Zdunić G., Maul E., Hančević K., Leko M., Butorac L., Mucalo A., Radić T., Šimon S., Budić Leto I., Žulj Mihaljević M., et al. (2017b). Genetic Diversity of Wild Grapevine [*Vitis vinifera* L. subsp. *silvestris* (Gmel.) Hegi] in the Eastern Adriatic Region. *Am. J. Enol. Vitic.* 68: 252–257.
- Zdunić G., Preece E.J., Aradhya M., Velasco D., Koehmstedt A., Dangl, S.G. (2013). Genetic diversity and differentiation within and between cultivated (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) and wild (*Vitis vinifera* L. ssp. *silvestris*) grapes. *Vitis*. 52: 29-32.
- Zecca G., De Mattia F., Lovicu G., Labra M., Sala F., Grassi F. (2010). Wild grapevine: *silvestris*, hybrids or cultivars that escaped from vineyards? Molecular evidence in Sardinia. *Plant Biology*. 12: 558-562.



## Napomena

Istraživanje je podržano u okviru projekta oznake UIP-2014-09-9737 „Divlja loza (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*): vrijedni izvor gena za oplemenjivanje vinove loze“ financiranog od Hrvatske zaklade za znanost, te projekta oznake KK05.1.1.02.0010 „Procjena tolerantnosti hrvatske germplazme vinove loze na sušu“ financiranog od strane Europskog regionalnog fonda.

## Genetic resources of wild grapevine (*Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris*) in Croatia

### Abstract

Croatia has rich germplasm resources of cultivated grape. The large number of autochthonous varieties are in commercial cultivation due to long tradition of cultivation, favorable geographical position, and historical circulation of propagation materials. In contrast to cultivated grape, wild grape (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* Gmel Hegi) were not interesting for commercial production, so over time they were completely neglected resulting in very little knowledge of these genetic resources in Croatia. Within the research activities of the WI.GRA.GENE project supported by the Croatian Science Foundation, natural populations of wild grape in Croatia during 2015-2018 were investigated. Certain research activities continued within other projects after the formal closure of the HRZZ project. The main objectives of the WI.GRA.GENE project were to identify remaining wild grape populations in Croatia, and to investigate its phenotypic and genetic characteristics. Modern methods of DNA genotyping, chemical methods for the determination of specific phenolic compounds in grapes, and standard morphological descriptors were used. The results suggest a significant genetic value of Croatian wild grape, and provide the necessary information for its preservation and use in breeding and modern viticulture.

**Key words:** *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*, *Vitis vinifera* subsp. *vinifera*, genetic diversity, Croatia, SSR markers

**Agroekologija,  
ekološka poljoprivreda  
i zaštita okoliša**

**01**

**Agroecology,  
Organic Agriculture  
and Environment  
Protection**



## Ocjena stanja ekološke poljoprivrede u Republici Hrvatskoj prema mišljenju poljoprivrednika

Slavica Antunović<sup>1</sup>, Ozana Živković<sup>2</sup>, Ljiljana Božić-Ostojčić<sup>1</sup>, Edita Štefanić<sup>3</sup>, Krunoslav Miroslavljević<sup>1</sup>, Teuta Benković-Lačić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Biotehnički odjel, Sveučilište u Slavanskom Brodu, Trg Ivane Brlić Mažuranić 2, Slavonski Brod, Hrvatska (santunovic@unisb.hr)*

<sup>2</sup>*diplomirana studentica Biotehničkog odjela Sveučilišta u Slavanskom Brodu*

<sup>3</sup>*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska*

### Sažetak

Cilj rada je online anketnim ispitivanjem poljoprivrednika procijeniti stanje ekološke poljoprivrede u RH. Rezultati ankete su pokazali da 71 % ispitanika misli da nema dovoljno ekoloških proizvođača u RH, 40% ih planira prijeći na ekološki način uzgoja, a 49 % ih smatra da su troškovi proizvodnje viši u ekološkoj poljoprivredi. Kao najvažnije prednosti za prijelaz na ekološku proizvodnju navode da RH još uvijek ima čista tla i očuvanu prirodu te mogućnost korištenja sredstava iz EU fondova. Razlozi neprelaska s konvencionalne na ekološku proizvodnju su nedovoljna potražnja ekoloških proizvoda, nedovoljna educiranost poljoprivrednika i komplicirani zakonski propisi.

**Ključne riječi:** poljoprivrednici, anketno ispitivanje, ekološka poljoprivreda, RH

### Uvod

Ekološkom poljoprivredom se nastoje ublažiti štetne posljedice konvencionalne poljoprivrede na okoliš, klimu, bioraznolikost i plodnost tla. U skladu s tim Europska komisija u svojoj strategiji „Od polja do stola“ predviđa do 2030. godine smanjenje uporabe kemijskih pesticida za 50 % i povećanje površina pod ekološkom proizvodnjom na 25 % ukupnog poljoprivrednog zemljišta u EU (službene internetske stranice Europske unije).

U Republici Hrvatskoj se može uočiti značajan trend rasta ekološke poljoprivredne proizvodnje. Broj poljoprivrednih proizvođača u Upisniku subjekata u ekološkoj proizvodnji 2013. godine bio je 1.608, a 2019. godine 5.153. U istom razdoblju bilježi se i značajan porast površina pod ekološkom proizvodnjom, sa 40.660 ha povećale su se na 108.169 ha ili s 2,59 % na 7,18 % udjela u ukupno korištenim poljoprivrednim površinama. Ekološka proizvodnja je prepoznata kao ključni element u održivom gospodarenju prirodnim resursima EU i naglašen je njezin povoljan utjecaj na okoliš (<https://poljoprivreda.gov.hr>). Također, ima veliko značenje za održivi razvoj hrvatskog ruralnog prostora i poljoprivrede i partner je za održivu budućnost Hrvatske (Akcijски plan razvoja ekološke poljoprivrede u Republici Hrvatskoj za razdoblje 2011.-2016. godine).

U razdoblju od 2009. do 2011. godine na području Brodsko-posavske županije udvostručen je broj ekoloških gospodarstava, a utrostručene su površine u biljnoj proizvodnji te je ista 2011. godine bila na trećem mjestu po veličini površina pod ekološkom proizvodnjom iza Osječko-baranjske i Virovitičko-podravske županije (Božić-Ostojčić i sur., 2013.).

Unatoč dobrim predispozicijama i kontinuiranom porastu broja eko-proizvođača i ekoloških obradivih površina, ekološka poljoprivreda u RH još uvijek nije dovoljno razvijena.

Prema Gugiću i sur. (2017.) treba razvijati tržišnu infrastrukturu, marketinške aktivnosti i nadzor ekoloških proizvoda kako bi tržište u Hrvatskoj bilo odgovarajuće organizirano i kontrolirano. Njihova SWOT analiza ekološke poljoprivrede kao ključne elemente snaga ističe agroekološke resurse i povećani interes poljoprivrednika za ekološku poljoprivredu.

Cilj istraživanja je utvrditi kako poljoprivredni proizvođači ocjenjuju trenutno stanje ekološke poljoprivrede u Republici Hrvatskoj.

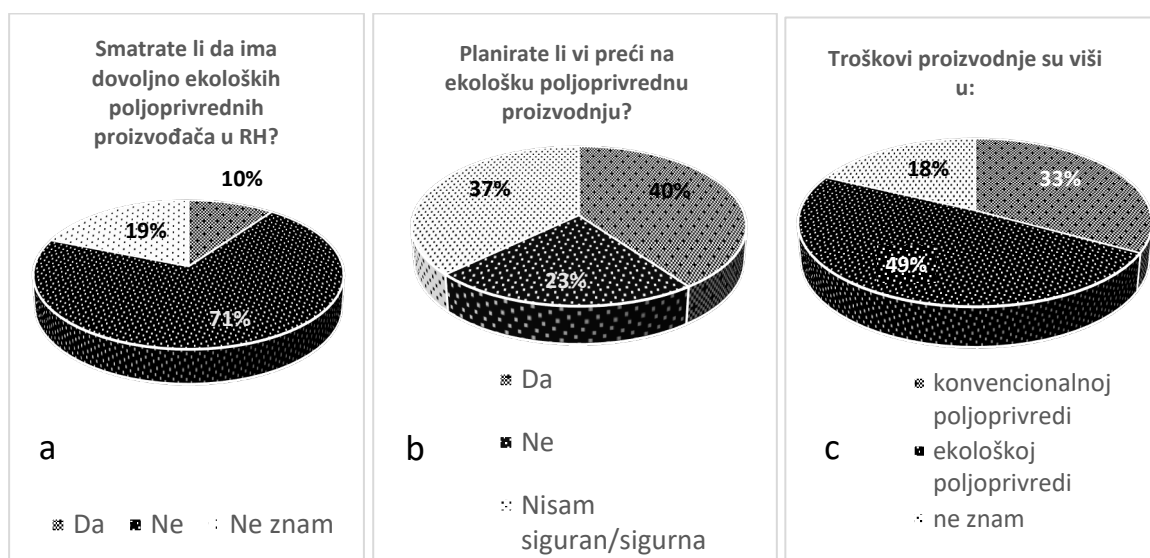
### Materijal i metode

Podaci su prikupljeni online anketnim ispitivanjem poljoprivrednika o ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji od ožujka do kolovoza 2020. godine. Anketni upitnik kreiran je prema Czaja i Blair (1996.). U uvodnom dijelu ankete su pitanja koja se odnose na sociodemografska obilježja ispitanika (spol, dob i stupanj završenog obrazovanja). U nastavku je devet pitanja vezanih uz ocjenu sadašnjeg stanja ekološke poljoprivrede u Republici Hrvatskoj. Anketa je provedena na uzorku od 100 ispitanika pomoću programskog sučelja Google Form, pri čemu su se koristili osnovni statistički izračuni, a dobiveni rezultati su prikazani grafikonima i tablično.

### Rezultati i rasprava

U istraživanju je sudjelovalo 100 ispitanika od čega je 61 % bilo muškog, a 39 % ženskog spola. U dobi do 25 godina bilo je 37 %, od 26 do 55 godina 40 %, a više od 55 godina imalo je 23 % ispitanika. S obzirom na završeno obrazovanje, 5% ih je s osnovnoškolskim, 46 % srednjoškolskim i 49 % visokoškolskim obrazovanjem. Ispitanici su uglavnom s područja Brodsko-posavske županije i bave se konvencionalnom poljoprivrednom proizvodnjom.

Mišljenje ispitanika o stanju ekološke poljoprivrede prikazano je Grafikonom 1. Čak 71 % ispitanika misli da nema dovoljno ekoloških poljoprivrednih proizvođača u RH, 40 % ih planira prijeći na ekološki način uzgoja, a 49% ih smatra da su troškovi proizvodnje viši u ekološkoj poljoprivredi.



Grafikon 1. a, b, c. Mišljenje ispitanika o stanju ekološke poljoprivrede u RH (rezultati odgovara na prva tri pitanja ankete)

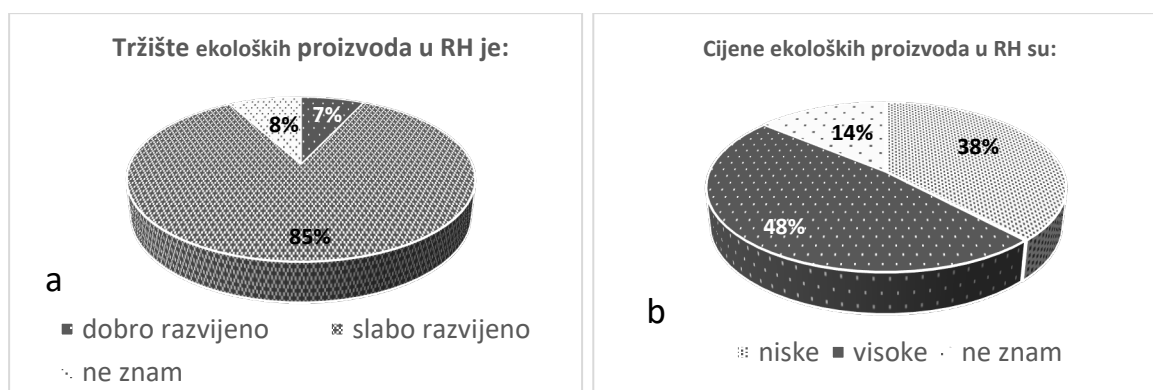
U Tablici 1. navedena su sljedeća tri pitanja ankete s ponuđenim odgovorima o ekološkoj poljoprivredi i postotak ispitanika koji su suglasni s određenim odgovorom. Ispitanici su mogli odabrati više ponuđenih odgovora.

Tablica 1. Rezultati odgovora na postavljena pitanja o ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji

<b>Koje su po Vama najznačajnije koristi ekološke poljoprivredne proizvodnje? (moguće više odgovora)</b>	
a) proizvodnja zdravstveno ispravne i visokokvalitetne hrane	45%
b) zaštita zdravlja ljudi i životinja	46%
c) zaštita okoliša (tla, vode, zraka)	45%
d) očuvanje biološke raznolikosti	32%
e) sve navedeno	60%
<b>Koje po Vama prednosti imaju poljoprivrednici u RH za prijelaz na ekološku poljoprivrednu proizvodnju? (moguće je više odgovora)</b>	
a) Hrvatska još ima čista tla i očuvanu prirodu u odnosu na neke druge zemlje	75%
b) uključuje se mlađa populacija koja je bolje informirana i motivirana	50%
c) prenošenje praktičkih iskustava od postojećih ekoloških poljoprivrednih proizvođača	31%
d) mogućnost korištenja državnih potpora	48%
e) mogućnost korištenja sredstava iz EU fondova	66%
f) porast svijesti o konzumiranju zdravstveno ispravne hrane i zbog toga veća potražnja eko-proizvoda na hrvatskom tržištu	52%
<b>Što su po Vama osnovni razlozi ne prelaženja poljoprivrednika s konvencionalne na ekološku proizvodnju? (moguće je više odgovora)</b>	
a) nedovoljna educiranost poljoprivrednika	54%
b) nedovoljna informiranost kupaca o eko-proizvodima	47%
c) visoka početna ulaganja i financiranje iz vlastitih izvora	49%
d) komplicirani zakonski propisi	53%
e) nedostatak stručne potpore proizvođačima	33%
f) nedovoljna potražnja ekoloških proizvoda na hrvatskom tržištu	58%

Kao najznačajnije koristi ekološke poljoprivredne proizvodnje najveći postotak ispitanika (60%) je odabrao za odgovor „sve navedeno“: proizvodnja zdravstveno ispravne i visokokvalitetne hrane, zaštita zdravlja ljudi i životinja, zaštita okoliša (tla, vode, zraka) i očuvanje biološke raznolikosti. Prema Sudarić i sur. (2018.) potrebno je utjecati na svijest potrošača o zdravlju obitelji, onečišćenju pa čak i uništenju ekosustava. Na pitanje „Koje po Vama prednosti imaju poljoprivrednici u RH za prijelaz na ekološku poljoprivrednu proizvodnju?“, najveći broj ispitanika (75 %) odabrao je odgovor da Hrvatska još ima čista tla i očuvanu prirodu u odnosu na neke druge zemlje, a zatim mogućnost korištenja sredstava iz EU fondova (66%). Pejnović i sur. (2012.) navode da su očuvane poljoprivredne površine unutar različitih klimatsko-ekoloških areala, potencijal za razvoj ekološke poljoprivrede u Hrvatskoj. Kao osnovne razloge ne prelaženja s konvencionalne na ekološku proizvodnju, 58 % ispitanika navelo je nedovoljnu potražnju ekoloških proizvoda na hrvatskom tržištu, 54 % nedovoljnu educiranost poljoprivrednika, a 53 % komplicirane zakonske propise.

Tržište ekoloških proizvoda u RH je, prema mišljenju većine ispitanika (85 %), još uvijek slabo razvijeno, a cijene ekoloških proizvoda su, prema navodima 48 % ispitanika, visoke (Grafikon 2). Međutim, detaljnom analizom tržišta ekoloških proizvoda na području sjeveroistočne Hrvatske Štefanić i sur. (2001.) su zaključili da potrošači ekoloških proizvoda očekuju da budu dobro informirani o onome što kupuju, te da su spremni platiti i više za certificiranu, ekološki proizvedenu hranu.



Grafikon 2. a, b. Mišljenje ispitanika o tržištu ekoloških proizvoda u RH (rezultati odgovora na sedmo i osmo pitanje ankete)

Plasman ekoloških proizvoda, prema najvećem postotku ispitanika (77 %) bi se trebao odvijati na „kućnom pragu“ eko-proizvođača. Nasuprot tome, dostava na kućni „prag potrošača“ (28 %) i internetska prodaja (35 %) nije bio primarni odabir plasmana ekoloških proizvoda većini ispitanika (Grafikon 3).



Grafikon 3. Mišljenje ispitanika o plasmanu ekoloških proizvoda (rezultati odgovora na deveto pitanje ankete)

## Zaključak

Rezultati anketnog istraživanja su pokazali da 71 % ispitanika misli da nema dovoljno ekoloških proizvođača u RH, 40 % ih planira prijeći na ekološki način uzgoja, a 49 % ih smatra da su troškovi proizvodnje viši u ekološkoj poljoprivredi. Kao najvažnije prednosti za prijelaz na ekološku proizvodnju navode da RH još uvijek ima čista tla i očuvanu prirodu te mogućnost korištenja sredstava iz EU fondova. Razlozi ne prelaženja s konvencionalne na ekološku proizvodnju su nedovoljna potražnja ekoloških proizvoda, nedovoljna educiranost poljoprivrednika i komplicirani zakonski propisi.

## Napomena

Rezultati anketnog ispitivanja u radu su dio istraživanja završnog rada studentice Ozane Živković na Biotehničkom odjelu Sveučilišta u Slavonskom Brodu pod nazivom: Upućenost poljoprivrednika u važeće zakonske propise vezane uz zaštitu bilja u ekološkoj poljoprivredi.

## Literatura

- Božić-Ostojčić Lj., Antunović S., Martić M., Čiprić K. (2013). Pregled ekološke poljoprivredne proizvodnje na području Brodsko-posavske županije u razdoblju 2009.-2011. godine. *Proceedings of the 6th international scientific/professional conference Agriculture in nature and environment protection*, Jug I., Đurđević B. (ed.), 238–244. Vukovar, Hrvatska: Glas Slavonije d.d., Osijek.
- Czaja, R. F., Blair, J. E. (1996). *Designing surveys – a guide to decisions and procedures*. Pine Forge Press, Thousand Oaks, California, London, New Delhi.
- Gugić J., Grgić I., Dorbić B., Šuste M., Džepina M., Zrakić M. (2017). Pregled stanja i perspektiva razvoja ekološke poljoprivrede u Republici Hrvatskoj. *Glasnik zaštite bilja*. Volumen (3): 20-30.
- Pejnović, D., Ciganović, A., Valjak, V. (2012). Ekološka poljoprivreda Hrvatske: problemi i mogućnosti razvoja. *Hrvatski geografski glasnik*. 74/1: 141-159.
- Republika Hrvatska, Ministarstvo poljoprivrede, Ekološka (2020). Raspoloživo: (<https://poljoprivreda.gov.hr/ekoloska/199>)
- Republika Hrvatska, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (2011). Akcijski plan razvoja ekološke poljoprivrede u Republici Hrvatskoj za razdoblje 2011.-2016. godine. Zagreb, Hrvatska. Raspoloživo: [http://www.azrri.hr/fileadmin/dokumenti-download/akcijski\\_plan\\_razvoja\\_ekolo%20ke\\_poljoprivrede\\_za\\_razdoblje\\_2011-2016.pdf](http://www.azrri.hr/fileadmin/dokumenti-download/akcijski_plan_razvoja_ekolo%20ke_poljoprivrede_za_razdoblje_2011-2016.pdf)
- Službene internetske stranice Europske unije, Europska komisija, Europski zeleni plan (2020). Raspoloživo: [https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal/actions-being-taken-eu/farm-fork\\_hr](https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal/actions-being-taken-eu/farm-fork_hr)
- Sudarić T., Galić A., Bubalo A. (2018). Primjena kvalitativnog metodološkog okvira za ocjenu ekološke poljoprivrede. *Proceedings of the 53rd Croatian and 13rd International Symposium on Agriculture*, Rozman V., Antunović Z. (ed.), 150–154. Osijek, Hrvatska: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Štefanić, I., Štefanić, E., Haas, R. (2001). What the customers really want: organic food market in Croatia? *Die Bodenkultur* 52 (4): 243-248.

## Assessment of the state of organic agriculture in the Republic of Croatia according to farmers opinion

### Abstract

This paper evaluates the state of organic agriculture in the Republic of Croatia through an online survey of farmers. The results showed that 71% of respondents think that there are not enough organic producers, 40% plan to switch to organic farming, and 49% believe that production costs are higher in organic agriculture. As the most important advantages for transitioning to organic production, they state that Croatia still has clean soil and preserved nature, as well as the possibility of using EU funds. The reasons for not switching from conventional to organic production are insufficient demand for organic products, insufficient education of farmers and complicated legal regulations.

**Key words:** farmers, survey, organic agriculture, RH



## GC-MSD analysis of the *Melaleuca alternifolia* chemical composition

Milena Đorđević<sup>1</sup>, Tijana Stojanović<sup>1</sup>, Vojislava Bursić<sup>1</sup>, Gorica Vuković<sup>2</sup>, Nikola Puvača<sup>3</sup>, Aleksandra Petrović<sup>1</sup>, Bojan Konstantinović<sup>1</sup>, Dušan Marinković<sup>1</sup>, Snežana Tanasković<sup>4</sup>

<sup>1</sup>University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department for Environmental and Plant Protection, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Serbia (milendjordjevic115@gmail.com)

<sup>2</sup>Institute of Public Health, Bulevar Despota Stefana 54a, Belgrade, Serbia

<sup>3</sup>Department of Engineering Management in Biotechnology, Faculty of Economics and Engineering Management, University Business Academy, Cvećarska, 2, Novi Sad, Serbia

<sup>4</sup>University of Kragujevac, Faculty of Agronomy, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia

### Abstract

In recent decades *Melaleuca alternifolia* has gained increasing attention in scientific circles due to its broad-spectrum germicidal and antimicrobial effects. The aim of this study was to analyse its essential oil by the GC-MSD. The main constituent was terpinen-4-ol with 38.5% in content, followed by  $\alpha$ -pinene (18.4% in content) and  $\gamma$ -terpinene (14.0% in content). Beside the mentioned components 24 other constituents were detected which in total make less than 30.00% of the studied essential oil.

**Key words:** tea tree, GC-MSD, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -pinene,  $\gamma$ -terpinene

### Introduction

Essential oils are secondary metabolites which consist of volatile and semi-volatile compounds. These compounds are extracted by distillation from different parts of the plant (flowers, fruits, buds, seeds, leaves, twigs, roots, etc.) (Sankarikutty and Narayanan, 2003). These oils are mixtures of natural components with different concentrations, with major components being responsible for the biological activity of the extracted essential oil (Bakkali et al., 2008). The extraction of essential oils and their biological activity depend on the phenological state of the plant, environmental conditions and the extraction method (Stojanović et al., 2017). Genus *Melaleuca* belongs to the *Myrtaceae* family and comprises more than 230 species. *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) commonly referred to as the „tea tree“ is woody plant which naturally occurs in Australia (Baskorowati et al., 2010). Bundjabung Aborigines have been using this plant for several millennia as medicine for bruises, insect bites or skin infections. When European colonists recognized the therapeutic properties, they began to distil oil from its leaves. In 1920s it became a topical antiseptic and characterized like essential oil with more effective activity than phenol. From that time, tea tree oil (TTO) became a standard antiseptic for dental surgery. Later, the British Pharmaceutical Codex reported about germicidal properties of the TTO. In the view of the above, a long-standing use of this oil has been recognized since 1930 internationally and since 1933 in the European Community. In addition to the traditional use of TTO, there are pharmacological or clinical data which confirm the antibacterial, antifungal and antiviral activity under the controlled conditions. Little evidence about the developing of the induced tolerance and resistance indicate the even more significant efficiency of TTO. In addition to the clinical data, TTO is useful in skin hygiene and protection. If the TTO is not used in the right dosage it can lead to the toxicity. The use of relatively high dosages of TTO (10-25 ml) results in symptoms like depression of Central Nervous System and muscle weakness. When we talk about the derma irritation, these adverse events have mostly local characters. The allergic reactions are reported in the literature ranges between 0.6% and 2.4% (mean 1.6%). Considering

the toxicity of TTO reported in the literature no observed adverse effect level (NOAEL) was estimated for the whole TTO, which amounts to 330 mg/kg b.w. (EMA, 2013). To a great extent *M. alternifolia* owes medicinal value to its main constituent terpinen-4-ol, by virtue of the activity of this monoterpene which inhibits bacterial respiration. *Melaleuca alternifolia* is a woody plant up to 7 m high which is dominant in streams and the swampy areas. The leaves have a linear shape and they are rich in bioactive components (Puvača et al., 2019).

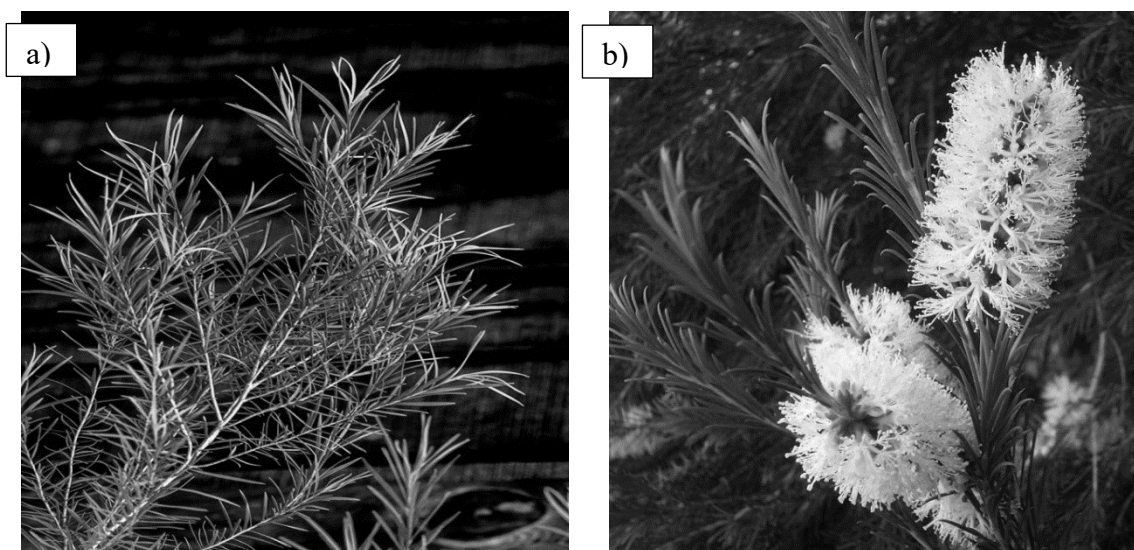


Image 1. The plant (a) and the flower (b) of tea tree  
(a) <https://abc.herbalgram.org> (b) <https://herbaethylacini.com>

### Materials and methods

The TTO has been extracted from the commercially available dried plant material by the supercritical fluid extraction (SFE). Conventional semi-continuous method was applied, using supercritical CO<sub>2</sub>. The CO<sub>2</sub> with increased purity was heated through preheating coil. Forty grams of sample together with glass beads were put into the extraction cell with volume of 100 mL. As to prevent solid samples to enter the system, cotton wool was placed at the end of the cell. Heated CO<sub>2</sub> was injected into the extraction cell, after which it was allowed to dissolve the essential oil by constant static extraction time. The essential oil left the cell by the constant flow rate of the CO<sub>2</sub>, while being captured and harvested with 10 mL of ethanol solvent. Essential oil was kept in the refrigerator until the GC and GC-MSD analysis. Gas chromatography (GC) and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MSD) analyses were performed using an Agilent 7890A GC equipped with an inert 5975C XL EI/CI mass spectrometer detector (MSD) and flame ionisation detector (FID) connected by capillary flow technology 2-way splitter with make-up. The HP-5MS capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) was used. The GC oven temperature was programmed from 60 to 300°C at a rate of 3°C min<sup>-1</sup> and held for 15 min. Helium was used as the carrier gas at 16.255 psi (constant pressure mode). An auto-injection system (Agilent 7683B Series Injector) was employed to inject 1 μL of sample. The sample was analysed in the splitless mode. The injector temperature was 300°C, while the detector temperature was 300°C. MS data were acquired in the EI mode with scan range of 30–550 m/z, source temperature of 230°C and quadrupole temperature of 150°C; the solvent delay was 3 min. Identification of all compounds in the analyses was matched by comparison of their linear retention indices (relative to C<sub>8</sub>–C<sub>36</sub> *n*-alkanes on the HP-5MSI column) and MS spectra with those of authentic standards from NIST (2011) and homemade MS library databases.

## Results and discussion

The chromatogram obtained by the GC-MSD analysis of the TTO is showed in Figure 1, while the detected components are presented in Table 1.

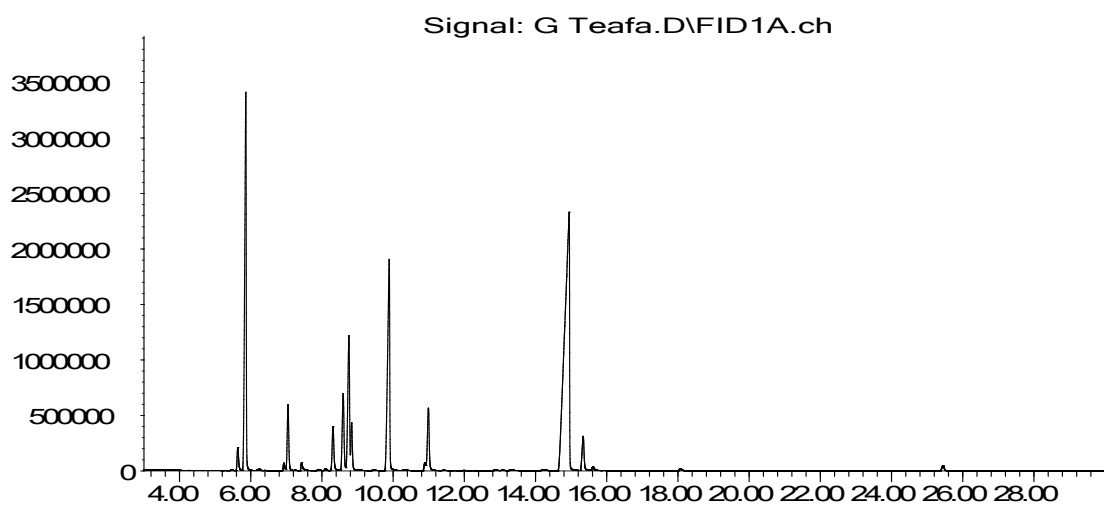


Figure 1. Chromatogram of the *Melaleuca alternifolia* essential oil

Table 1. Constituents of the *E. obliqua* essential oil

peak	RI	RI	R.T.	peak	%
		NIST	min	area	max.
Thujene<alpha->	922	924	5.636	6188846	1.1%
Pinene<alpha->	930	932	5.862	10378780	<b>18.4%</b>
Camphene	945	946	6.241	426350	0.1%
Sabinene	970	969	6.932	1975732	0.3%
Pinene<beta->	974	974	7.047	17997415	3.2%
Myrcene	988	988	7.428	2559567	0.5%
Phellandrene<alpha->	1004	1002	7.9	512471	0.1%
Carene<delta-3->	1009	1008	8.098	496416	0.1%
Terpinene<alpha->	1015	1014	8.311	13269800	2.3%
Cymene<para->	1023	1020	8.598	24281043	4.3%
Limonene	1027	1024	8.758	42642222	7.6%
Cineole<1,8->	1029	1026	8.835	12167349	2.2%
Ocimene<(E)-beta->	1046	1044	9.439	439293	0.1%
Terpinene<gamma->	1058	1054	9.89	79094378	<b>14.0%</b>
NI	1070	0	10.352	263406	trace
Mentha-2,4(8)-diene<para->	1085	0	10.891	2151577	0.4%
Terpinolene	1088	1086	10.991	20119762	3.6%
NI	1113	0	11.988	158926	trace
NI	1133	0	12.861	463767	0.1%
NI	1138	0	13.063	322634	0.1%
NI	1143	0	13.303	673893	0.1%
Borneol	1164	1165	14.24	791807	0.1%
Terpinen-4-ol	1180	1174	14.944	217593646	<b>38.5%</b>
Terpineol<alpha->	1190	1186	15.34	12173870	2.2%
Terpineol<gamma->	1196	1199	15.606	1180981	0.2%
NI	1251	0	18.06	796333	0.1%
Caryophyllene(E-)	1419	1417	25.448	2155826	0.4%

Based on the obtained results the conclusion is that terpinen-4-ol is the main constituent of the *Melaleuca alternifolia* essential oil with 38.5% in content. Other major components were defined as the  $\alpha$ -pinene (18.4% in content) and  $\gamma$ -terpinene (14.0% in content). Beside the mentioned components 24 other constituents were detected which in total make less than 30.00% of the studied essential oil.

Similar results were obtained by Verghese et al. (1996) who identified the constituents of the tea tree of the Indian and Australian origin. Namely, the detected major compounds in the studied samples of tea tree were present as follows: terpinen-4-ol ranged between 36.4 and 45.4%,  $\gamma$ -terpinene ranged between 15.7 and 23.2% and  $\alpha$ -pinene ranged between 2.1 and 3.4%.

## Conclusion

The main constituent of the tea tree essential oil determined by the GC-MSD analysis in this paper was terpinen-4-ol with 38.5%, followed by  $\alpha$ -pinene with 18.4% and  $\gamma$ -terpinene with 14.0% in content.

Beside the mentioned components 24 other constituents were detected which in total make less than 30.00% of the studied essential oil.

Since the main components are considered responsible for the biological activity of essential oils the conclusion is that the biological effect of *Melaleuca alternifolia* essential oil is affected by monocyclic and bicyclic monoterpenes (terpinen-4-ol,  $\alpha$ -pinene and  $\gamma$ -terpinene).

## Acknowledgements

The authors acknowledge the financial support of the Ministry of Education and Science, Republic of Serbia

## References

- Bakkali S., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological Activities of Essential Oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 447.
- Baskorowati L., Moncur M. W., Cunningham S. A., Doran J. C., Kanowski P. J. (2010). Reproductive biology of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany*. 58: 373.
- EMA (2013). Assessment report on *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betch) Cheel, *M. linariifolia* Smith, *M. dissitiflora* F. Mueller and/or other species of *Melaleuca*, aetheroleum. 8, 9, 72, 73.
- Puvača N., Čabarkapa I., Petrović A., Bursić V., Prodanović R., Soleša D., Lević J. (2019). Tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and its essential oil: antimicrobial, antioxidant and acaricidal effects in poultry production. *World's Poultry Science Journal*. 75: 2.
- Sankarikutty B., Narayanan C. S. (2003). Essential oils/Isolation and Production. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*. Academic Press. 2185.
- Stojanović T., Tešević V., Bursić V., Vuković G., Šućur J., Popović A., Petrović M. (2017). The chromatographic analysis of caraway essential oil as the potential biopesticide, *Proceedings of the 23rd International Symposium on Analytical and Environmental Problems October 9-10, Szeged, Hungary, Publisher: University of Szeged, Department of Inorganic and Analytical Chemistry*. 15.
- Verghese J., Jacob C. V., Kunjuni Kartha C. V. (1996). Indian Tea Tree (*Melaleuca alternifolia* Cheel) Essential Oil. *Flavour And Fragrance Journal*. 11: 220.

## Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija *Rhizoctonia solani*

Helena Ereš, Karolina Vrandečić, Jelena Ilić, Jasenka Ćosić

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (kvrandecic@fazos.hr)*

### Sažetak

Provedeno je *in vitro* ispitivanje antifungalnog djelovanja dvanaest eteričnih ulja (lavanda, citronela, čajevac, cimet kora, eukaliptus, bor, timijan, ružmarin, anis, naranča slatka, čempres, klinčić) na zemljišnu fitopatogenu gljivu *Rhizoctonia solani*. Ulja su primjenjena u količinama 5, 10, 15, 25 i 50  $\mu\text{L}$ , a mjerenje zone inhibicije obavljeno je četvrtog i sedmog dana. Utvrđeno je da sva ulja izuzev ulja naranče slatke imaju antifungalni učinak na ispitivanu gljivu. Najbolje antifungalno djelovanje imala su ulja timijana i anisa koja su potpuno inhibirala rast micelija čak i kod primjene ulja u količini 5  $\mu\text{L}$ .

**Glavne riječi:** eterična ulja, fitopatogena gljiva, zona inhibicije

### Uvod

*Rhizoctonia solani* J.G. Kühn (teleomorf *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk) najznačajnija je vrsta roda *Rhizoctonia*, zemljišni je parazit i polifag koji parazitira na više od 200 kultiviranih i korovnih vrsta. Zaštita biljaka od zemljišnih uzročnika bolesti prije svega se provodi primjenom agrotehničkih mjera kao što su plodored, duboko zaoravanje biljnih ostataka i uravnotežena gnojidba. Primjena kemijskih fungicida je ograničena, a njihova učinkovitost često nezadovoljavajuća. Uzmemo li u obzir da su kemijski fungicidi ekološki neprihvatljivi, da negativno djeluju na zdravlje životinja i ljudi te da patogeni ubrzano razvijaju rezistentnost na fungicide sve je izraženija potreba za provođenjem istraživanja o mogućnostima primjene nepesticidnih mjera koje manje štete okolišu (Holmes i Eckert, 1999.). Eterična ulja su metaboliti biljaka iznimno važni za njihovu obranu budući da posjeduju fungicidna, baktericidna, antivirusna i insekticidna svojstva te su potencijalno vrlo dobra osnova za proizvodnju bioloških sredstava za zaštitu bilja (Kishore i Pande, 2004., Bakkali i sur., 2008., Bassolé i Juliani, 2012.).

### Materijal i metode

Za ispitivanje antifungalnog učinka eteričnih ulja na fitopatogenu gljivu *R. solani* korištena su sljedeća ulja: anis (*Pimpinella anisum* L.), bor (*Pinus sylvestris* L.), cimet kora (*Cinnamomum verum* Bercht & Presl), citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle), čajevac (*Melaleuca alternifolia* Cheel.), čempres (*Cupressus sempervirens* L.), eukaliptus (*Eucalyptus globulus* Labill.), klinčić (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry), lavanda (*Lavandula angustifolia* L.), naranča slatka (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck.), ružmarin (*Rosmarinus officinalis* L.) i timijan (*Thymus vulgaris* L.). Ulja su proizvedena i njihov je sastav analiziran u Kemig d.o.o., Sesevete-Soblinec. Sva eterična ulja korištena su u količinama 5, 10, 15, 25 i 50  $\mu\text{L}$ . U sredinu Petrijevih zdjelica s 10 ml krumpir dekstroznog agara (PDA) (Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka) postavljen je kružni isječak sterilnog filter papira na koji je aplicirana pokusom predviđena određena količina eteričnog ulja. Kružni isječci osam dana stare čiste kulture gljive *R. solani* stavljeni su nasuprotno na četiri mjesta pri čemu je svaki isječak udaljen 5 mm od ruba zdjelice. U kontrolnoj varijanti umjesto eteričnog ulja aplicira se sterilna destilirana voda. Petrijeve zdjelice su inkubirane u

termostat komori na temperaturi 22°C, relativnoj vlažnosti zraka 70% i svjetlosnom režimu 12 sati svjetlo / 12 sati tama. Mjerenje zone inhibicije je obavljeno četvrtog i sedmog dana od nacjepljivanja. Pokus je za svaku količinu i svako eterično ulje postavljen u tri ponavljanja.

## Rezultati i rasprava

Antifungalno djelovanje eteričnih ulja primijenjenih u pet različitih količina na porast micelija gljive *R. solani* četvrti dan od nacjepljivanja prikazano je u Tablici 1., a sedmi dan od nacjepljivanja u Tablici 2.

Tablica 1. Antifungalno djelovanje eteričnih ulja na rast micelija *R. solani* četvrti dan od nacjepljivanja (zona inhibicije u mm)

Ulje	10 µl	15 µl	25 µl	50 µl	LSD	
					0,01	0,05
Lavanda	23,50	28,83	29,92	30,00	0,96	1,40
Citronela	28,42	28,33	29,58	29,75	1,78	2,59
Čajevac	27,73	29,67	30,00	29,92	1,84	2,67
Cimet kora	29,58	26,75	29,92	27,92	1,97	2,86
Eukaliptus	0	0	23,58	19,25	2,26	3,29
Bor	0	0	29,17	20,25	1,96	2,85
Timijan	29,58	29,00	30,00	29,83	1,89	2,75
Ružmarin	0	0	29,67	29,92	0,61	0,88
Anis	29,58	29,58	30,00	30,00	0,61	0,81
Naranča slatka	0	0	2,50	0	3,68	5,35
Čempres	0	10,42	30,00	28,17	3,81	5,55
Klinčić	9,08	12,67	26,00	11,67	3,60	5,24
Kontrola	0	0	0	0		
LSD 0,05	1,18	2,43	2,58	1,45		
0,01	1,60	3,29	3,48	1,96		

Antifungalno djelovanje eteričnih ulja ovisi o vrsti i kemijskom sastavu ulja, vrsti fitopatogene gljive, načinu primjene i primjenjenoj količini ulja (Palfi, 2017.).

Četiri dana od inokulacije kod primjene svih ulja u količini 5 µL zona inhibicije je bila 0 mm te zbog toga ti rezultati nisu prikazani. Ulja eukaliptusa, bora, slatke naranče i ružmarina nisu imala negativan utjecaj na rast gljive pri primjeni u količinama 10 i 15 µL. Pri primjeni ulja u količinama 25 i 50 µL sva su ulja statistički značajno inhibirala rast *R. solani* izuzev ulja naranče slatke. Lee i sur., (2007.) također navode da ulje naranče slatke nema fungistatično djelovanje na *R. solani*, ali niti na *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* i *Pythium ultimum*. Eterična ulja lavande i anisa potpuno su inhibirala rast gljive pri najvećoj primijenjenoj količini (50 µL), ali su i ulja citronele, čajevca, ružmarina, timijana i čempresa imala jak fungistatični učinak. Tanović i sur., (2005.) navode da eterična ulja timijana, cimeta i anisa imaju najjači negativni učinak na rast *B. cinerea* dok je ulje naranče imalo najslabije djelovanje. Najjače antifungalno djelovanje imala su ulja anisa i timijana kod kojih nisu utvrđene značajne razlike u jačini djelovanja s povećanjem količine ulja.

Sedam dana od nacjepljivanja eterična ulja lavande, čajevca, eukaliptusa, bora, naranče slatke, čempresa i klinčića primijenjena u količini 10 µL nisu inhibirala rast micelija *R. solani*. Ulja citronele, cimeta, ružmarina, timijana i anisa statistički su vrlo značajno inhibirala porast micelija u odnosu na prethodno navedena ulja i kontrolu. Pri primjeni u

količini 15  $\mu\text{L}$  ulja čajevca, timijana, anisa, cimeta i citronele gotovo su potpuno inhibirala rast gljive, a ulja eukaliptusa, bora, ružmarina, naranče slatke, čempresa i klinčića nemaju negativan učinak na gljivu.

Tablica 2. Antifungalno djelovanje eteričnih ulja na rast micelija *R. solani* sedmi dan od nacjepljivanja (zona inhibicije u mm)

Ulje	10 $\mu\text{l}$	15 $\mu\text{l}$	25 $\mu\text{l}$	50 $\mu\text{l}$	LSD	
					0,01	0,05
Lavanda	0	0,58	29,92	30,00	0,99	1,44
Citronela	13,75	26,00	29,58	29,83	4,85	7,06
Čajevac	0	29,67	30,00	29,92	0,38	0,56
Cimet kora	28,75	18,00	29,83	27,25	3,70	5,39
Eukaliptus	0	0	0	0		
Bor	0	0	3,50	0	0,24	0,34
Timijan	29,58	29,00	30,00	29,83	1,54	2,24
Ružmarin	0	0	11,33	29,92	3,53	5,13
Anis	29,25	29,57	30,00	30,00	1,03	1,51
Naranča slatka	0	0	0	0		
Čempres	0	0	8,92	9,75	2,08	3,03
Klinčić	0	0	16,92	0	2,31	3,36
Kontrola	0	0	0	0		
LSD 0,05	2,12	2,19	2,27	1,09		
0,01	2,86	2,96	3,07	1,48		

Primjenom ulja čajevca, timijana i anisa u količini 25  $\mu\text{L}$  rast micelija gotovo je potpuno inhibiran, a ulja eukaliptusa i naranče slatke nisu inhibirala porast gljive. Primjenom u količini 50  $\mu\text{L}$  utvrđeno je da ulja eukaliptusa, bora i naranče slatke ne inhibiraju rast gljive dok ulja lavande, citronele, čajevca, timijana, ružmarina i anisa potpuno ili gotovo potpuno inhibirala njezin porast. Ćosić i sur., (2010.) navode da ulja bora i gorke naranče ne inhibiraju rast micelija niti jedne od dvanaest ispitivanih fitopatogenih gljiva dok eterična ulja timijana, anisa, klinčića, ružmarina i lavande imaju vrlo jako antifungalno djelovanje na sve ispitivane gljive među kojima je i *R. solani*. Jako negativno djelovanje ulja anisa na rast i razvoj fitopatogenih gljiva utvrdili su i De i sur. (2002.) i Huang (2010.), a jako antifungalno djelovanje timijana utvrdili su Zambonelli i sur., (1996.), Duduk i sur., (2015.) i Palfi i sur., (2019.). Prema Li i sur., (2017.) i Palfi (2017.) antifungalni učinak u pravilu se pojačava s povećanjem primjenjene koncentracije/količine eteričnog ulja. U našem istraživanju utvrdili smo da je za ulja bora, ružmarina, čempresa i klinčića zona inhibicije kod primjene 25  $\mu\text{L}$  statistički vrlo značajno veća u odnosu na veličinu zone inhibicije pri primjeni 10 i 15  $\mu\text{L}$  ulja. Kod ulja timijana i anisa nema statistički značajnih razlika u veličini zone inhibicije bez obzira na primijenjenu količinu ulja.

## Zaključak

Temeljem provedenih istraživanja možemo zaključiti da eterična ulja lavande, citronele, čajevca, cimet kore, eukaliptusa, bora, timijana, ružmarina, anisa, čempresa i klinčića imaju dobro antifungalno djelovanje na gljivu *Rhizoctonia solani*. Jačina fungistatičnog djelovanja ulja ovisi o primjenjenoj količini i vrsti ulja, a učinak ulja se smanjuje što je inkubacija duža. Neka eterična ulja poput timijana i anisa mogla bi biti dobra alternativa kemijskim fungicidima ukoliko bi njihovo djelovanje bilo dobro i u *in vivo* uvjetima što je potrebno ispitati budućim istraživanjima.

## Literatura

- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils—a review *Food and Chemical Toxicology*, 46(2): 446-475.
- Bassolé I. H. N., Juliani H. R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17:3 989–4006.
- Ćosić J., Vrandečić K., Poštić J., Jurković D., Ravlić M. (2010). In vitro antifungal activity of essential oils on growth of phytopathogenic fungi. *Poljoprivreda*, 16(2): 25-28.
- De M., De A. K., Sen P., Banerjee A. B. (2002). Antimicrobial Properties of Star Anise (*Illicium verum* Hook f). *Phytotherapy Research* 16(1): 94–95.
- Duduk N., Marković T., Vasić M., Duduk B., Vico I., Obradović, A. (2015). Antifungal Activity of The Essential Oils against *Colletotrichum acutatum*, the Causal Agent of Strawberry Anthracnose. *Essent Oil*, 18(3): 529-537.
- Holmes G. L., Eckert J. W. (1999). Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to post harvest citrus fungicides in California. *Phytopathology*, 89(9): 716– 721.
- Huang Y., Zhao J., Zhou L., Wang J., Gong Y., Chen X., Guo Z., Wang Q., Jiang W. (2010). Antifungal activity of the essential oil of *Illicium verum* fruit and its main component trans-anethole. *Molecules* 15(11):7558-7569.
- Kishore G. K., Pande S., Harish S. (2007). Evaluation of essential oils and their components for broad-spectrum antifungal activity and control of late leaf spot and crown rot diseases in peanut. *Plant Diseases*, 91(4): 375-379.
- Lee S. O., Choi G. J., Jang K. S., Lim H. K., Cho K. Y., Kim J. C. (2007). Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soilborne plantpathogenic fungi. *Plant Pathology Journal*, 23(2): 97-102.
- Li Y., Shao X., Xu J., Wei Y., Xu F., Wang H. (2017). Effects and possible mechanism of tea tree oil against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* in vitro and in vivo test *Canadian Journal of Microbiology* 63(3):219-227.
- Palfi, M. (2017.): Antifungalno djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti na fitopatogene gljivice u in vitro uvjetima. Doktorski rad, Sveučilište J.J. Strossmayera i Institut Ruđer Bošković.
- Palfi M., Konjevoda P., Vrandečić K., Ćosić J. (2019). Antifungal activity of essential oils on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* and *Bortytis cinerea*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 31(7): 544-554.
- Tanović B., Milijašević S., Todorović B., Potočnik I., Rekanović E. (2005). Toksičnost etarskih ulja za *Botrytis cinerea* Pers. in vitro, *Pesticidi i fitomedicina*, 20(2): 109-114.
- Zambonelli A., D'Aulerio A. Z., Bianchi A., Albasini A. (1996). Effects of Essential Oils on Phytopathogenic Fungi In Vitro. *Journal of Phytopathology*., 144(9-10): 491-494.

## Influence of essential oils on the growth of *Rhizoctonia solani* mycelium

### Abstract

Twelve essential oils (lavender, citronella, tea tree, cinnamon bark, eucalyptus, pine, common thyme, rosemary, anise, orange sweet, cypress, clove) were tested for *in vitro* antifungal activity on soilborne plant pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. Oils were applied in quantities of 5, 10, 15, 25 and 50  $\mu\text{L}$ , and the zone of inhibition was measured on the fourth and the seventh day of incubation. The results indicated that all examined oils except orange sweet had antifungal activity against investigated plant pathogen. The best antifungal activity had the essential oils of common thyme and anise which completely inhibited the mycelial growth even in the smallest amount of application.

**Key words:** essential oils, phytopathogenic fungus, zone of inhibition



## Efficiency of selenium agronomic biofortification: I. The influence of the method of application

Lucija Galić<sup>1</sup>, Tomislav Vinković<sup>1</sup>, Katarina Perić<sup>1</sup>, Franjo Nemet<sup>1</sup>, Ivona Kučera<sup>2</sup>, Zdenko Lončarić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josipa Jurja Strossmayera in Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (lprebeg@fazos.hr)*

<sup>2</sup>*Centre for Applied Life Sciences Healthy Food Chain Ltd., Vladimira Preloga 1, Osijek, Croatia*

### Abstract

Selenium (Se) is an essential element for animals and humans while it is beneficial to plants. Low intake of Se in human diet has negative consequences for health. Plants are among the main sources of Se for humans so it is possible to increase the Se intake in human diet by biofortification. Biofortification can be carried out in two ways: by fertilization (agronomic biofortification) and crop improvement (genetic biofortification). There are different types of agronomic biofortification to increase Se content in plants. Most common are foliar and soil application of Se. From studied literature can be concluded that foliar application of Se is mostly more efficient (as much as a 60-fold increase Se content comparing to control) and accordingly economically justified measure to increase Se content in plants than soil application (33-fold increase Se content comparing to control).

**Key words:** biofortification, Se, application method, soil fertilizer, foliar application

### Introduction

Se is a metalloid and ubiquitous in the environment with concentration in most soils ranging from 0.01 to 2.0 mg kg<sup>-1</sup>, but higher concentrations can occur in seleniferous areas (Bañuelos et al., 2015.). Dietary Se intake levels mainly depend on the total concentration and bioavailability of Se in food sources (Winkel et al., 2015). Recommended dietary allowance is 50-70 µg of Se per day (Schiavon et al., 2016). Se is incorporated into selenoproteins that have a wide range of pleiotropic effects, ranging from antioxidant and anti-inflammatory effects to the production of active thyroid hormone (Rayman, 2012). Se biofortification is the one of the most promising approaches to combat a low transfer of Se into the food chain (Winkel et al., 2015). Soil or foliar applications of Se fertilizers can increase Se content of edible portions of crop plants (Broadley et al., 2010). The foliar application of Se is effective in increasing the Se content in many crops, including barley (Pezzarossa et al., 2012), wheat (Manojlović et al., 2019), maize (Džomba et al., 2018), alfalfa (Petković et al., 2019). Manojlović et al. (2019) conducted an experiment on wheat and apropos concluded that foliar application of selenium is more efficient than soil application.

### Selenium in the natural environment

Se is found in all natural environments, including rocks, soils, water bodies, and the atmosphere. Se is released from Se-rich sources such as phosphatic rocks, organic-rich black shales, and coals through complex biogeochemical cycling process (Nancharaiyah and Lens, 2015.). Se intake and status is suboptimal in European and Middle Eastern countries, with less consistency in the Middle East (Stoffaneller and Morse, 2015). Studies have shown that in Balkan region soils are deficient in Se (Manojlović et al., 2019, Manojlović and Lončarić, 2017). Se mobility in soil is related to pH, soil redox potential and organic matter content.

Increasing pH causes increasing uptake of Se by plants (Eich-Greatorex et al., 2007). Decreasing the pH, Se adsorption rate increases, as electrostatic interactions become sturdier. On the other hand, raising in pH or reducing clay and iron (or aluminium) oxide/hydroxide content in the soil result in higher Se mobility and bioavailability (Schiavon et al., 2020). The concentration of Se in most soils of the world are low (normal range 0.01-2.0 mg Se kg<sup>-1</sup>; mean 0.4 mg Se kg<sup>-1</sup>), although seleniferous soil can contains very high concentration of up to 1200 mg Se kg<sup>-1</sup> (Broadley et al., 2006). In most of the soil samples from different areas in the Balkans, the total concentration of Se was in the range of 0.024-0.45 mg Se kg<sup>-1</sup> soil (Manojlović et al., 2019, Manojlović and Lončarić, 2017). However, soils around the world mostly have a low concentration of Se which has a negative impact on human health. One of the methods of increasing Se in human diet is biofortification.

### Biofortification in agriculture

Dietary deficiencies of Se can be addressed through dietary diversification, food fortification, supplementation, or by crop biofortification including fertilization (agronomic biofortification) and crop improvement (genetic biofortification) approaches (Broadley et al., 2010). The concentration of Se in wheat samples from the Balkan region was from 3.6-69 ng g<sup>-1</sup> and extremely low Se concentration (18 ng g<sup>-1</sup>) was measured in wheat from Croatia, grown on the soil with low Se availability (Manojlović and Lončarić, 2017). Plants take up inorganic (selenate (SeO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), selenite (SeO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), elemental Se (Se<sup>0</sup>)) and organic (e.g. Se-amino acids) Se species, and nano-selenium (El-Ramady et al., 2016.), but not selenides (Se<sup>2-</sup>) or colloidal elemental Se. Plant prefer to take up organic over inorganic Se species (Schiavon et al., 2020). Se biofortification efforts may make use of this natural variation between plant species, and choose crop species that naturally tend to contain higher Se (and sulphur) levels, such as *Brassica* and *Allium* species (Malagoli et al., 2015). Se biofortification can produce plants with superior health benefits (Schiavon et al., 2016). Fertilizing maize crops with selenate resulted in higher Se accumulation in both leaves and grains (Lachat et al., 2019). Wheat biofortification represents a great strategy because wheat is the second most widely cultivated cereal in the world and commonly consumed (Lara et al., 2019). To overcome the Se deficiency and its related public health issues, biofortification strategies have been applied to produce Se-enriched agricultural products through alternative new agronomic practices and the development of new biotechnologies in recent decades (Bañuelos et al., 2015).

### Method of Se application

The first important factor that significantly increases the Se content in plants is the type of application. There are some Se fertilization methods including soil application, foliar application and seed treatment with Se or seed priming as well as *in vitro* experiments (Ducsay et al., 2016). Most studies demonstrate that the foliar application is more efficient way of fertilizing, as was shown in the example of wheat and carrot, although soil fertilization is a more popular method (Izydorczyk et al., 2020). Soil application of selenate is potentially a wasteful method of selenium biofortification, as 80-90 % of the Se added as selenate may be leached out by irrigation or rainfall (Deng et al., 2017). On the other hand, selenate resulted in higher contents of Se in rice grains with soil application yielding nearly 450 % higher Se contents than foliar application (Boldrin et al., 2013). Lara et al. (2019) conclude that the foliar supplementation of 21 g ha<sup>-1</sup> of Se (as sodium selenate Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>) promoted an increase in the photosynthetic rate, which positively influenced the metabolism of carbohydrates by increasing starch, total soluble sugars, reducing sugars, and sucrose, thus resulting in increased grain yield (Lara et al., 2019). Both selenite and selenate have

shown to be more bioavailable to plants when applied directly to leaf surfaces opposed to soil (Ducsay et al., 2016). Foliar Se application were more effective in increasing the Se concentration and Se grain uptake by wheat than soil application according to Manojlović et al. (2019). Babalar et al. (2019) have shown that foliar application of Se significantly increased both leaf and fruit Se content in apple. Lidon et al. (2018) concluded that biofortification of crops with selenium is more effective with 120-300 g Se ha<sup>-1</sup>, but macronutrients quality in the flour varies significantly within rice genotype. Comparing the sources of Se within the foliar application, selenite provided increased S concentration when compared to selenate. Due to the chemical similarity between S and Se, plants absorb and metabolize Se via the S absorption and assimilation pathway (Boldrin et al., 2013). It was confirmed that foliar Se fertilizer application significantly increased Se concentrations in maize and beans, more than soil fertilizer application did, it shows that foliar pathways are commonly recognized as potentially more effective for Se uptake by plants because of Se immobilization in the soil is avoided (Lachat et al., 2019). Foliar application strategies require careful consideration factors related to spraying the Se solution onto plants: (1) Se solutions must be carefully prepared and delivered using well-calibrated spraying equipment; (2) windy and/or rainy days should be avoided and plants must have adequate leaf surface area to ensure absorption of Se; and (3) growth stages need to be determined for timing of applications to ensure greatest Se absorption (Bañuelos et al., 2015).

The most of the results showed that foliar application is more effective compared to the soil selenium application (Table 1).

Table 1. Types of fertilization and efficiency of plant uptake

species	treatment	g ha <sup>-1</sup> Se	control µg kg <sup>-1</sup> Se	µg kg <sup>-1</sup> Se	treatment/ control	reference
maize	foliar	20	34.00	305.67	8.99	Lachat et al. (2019)
beans	foliar	20	20.00	1202.33	60.12	Lachat et al. (2019)
buckwheat	foliar	10	43.30	88.30	2.04	Jiang et al. (2015)
wheat	foliar	10	30.00	64.00	2.13	Ducsay et al. (2016)
maize	foliar	1	8.23	8.67	1.05	Wang et al. (2013)
maize	soil	1	0.12	0.33	2.75	Wang et al. (2013)
buckwheat	soil	18	26.50	108.60	4.10	Jiang et al. (2015)
barley	soil	40	29.00	959.00	33.07	Gupta et al. (1993)

Foliar application increased Se uptake by plants better than soil application (treatment/control). Foliar application is usually more effective method which was concluded according to higher Se content (1.05-60.12 times), while soil application was almost half less effective (2.75-33.07). To achieve efficient and economically justified biofortification with regard to the researched literature, foliar application of selenium proved to be a better choice according to research by Manojlović et al., (2019) because the selenium content in plants increased multiple times as compared to soil application.

### Acknowledgment

This research was financially supported by the project „Application of Nanobiotechnology for Nutritional Supplementation with Selenium – (HRZZ-IP-2018-01-8119)“ and work of doctoral student Lucija Galić was supported through grant HRZZ-DOK-2020-01-1288 financed by Croatian Science Foundation.

## References

- Bañuelos G. S., Lin Z., Broadley M. (2017). Selenium biofortification. *Global Advances in Selenium Research from Theory to Application*. In: Selenium in plants, Plant Ecophysiology 11. Pilon smith et al. (eds.): 145–145.
- Boldrin P. F., Faquin V., Ramos S. J., Boldrin K. V. F., Ávila F. W., Guilherme L. R. G. (2013). Soil and foliar application of selenium in rice biofortification. *Journal of Food Composition and Analysis* (31): 238–244.
- Broadley M. R., Alcock J., Alford J., Cartwright P., Foot I., Fairweather-Tait S. J., Hart D. J., Hurst R., Knott P., McGrath S. P., Meacham M. C., Norman K., Mowat H., Scott P., Stroud J. L., Tovey M., Tucker M., White P.J., Young S.D., Zhao F.J. (2010). Selenium biofortification of high-yielding winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by liquid or granular Se fertilisation. *Plant and Soil* (332): 5–18.
- Broadley M. R., White P. J., Bryson R. J., Meacham M. C., Bowen H. C., Johnson S. E., Hawkesford M. J., McGrath S. P., Zhao F. J., Breward N., Harriman M., Tucker M. (2006). Biofortification of UK food crops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society* (65): 169–181.
- Deng X., Liu K., Li, M., Zhang W., Zhao X., Zhao Z. (2017). Field Crops Research Difference of selenium uptake and distribution in the plant and selenium form in the grains of rice with foliar spray of selenite or selenate at different stages. *Field Crops Research* (211): 165–171.
- Ducsay L., Ložek O., Marček M., Varényiová M., Hozlár P., Lošák T. (2016). Possibility of selenium biofortification of winter wheat grain. *Plant, Soil and Environment* (62): 379–383.
- Džomba E., Đikić M., Gadžo D., Čengić-Džomba S., Lončarić Z., Singh B.R. (2018). Effect of different doses and application methods of sodium selenate on selenium status in maize for silage. *Agricultural and Food Science* (27): 255–263.
- Eich-Greatorex S., Sogn, T. A., Øgaard A. F., Aasen I. (2007). Plant availability of inorganic and organic selenium fertiliser as influenced by soil organic matter content and pH. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* (79): 221–231.
- El-Ramady H., Abdalla N., Taha H. S., Alshaal T., El-Henawy A., Faizy S. E. D. A., Shams M. S., Youssef S. M., Shalaby T., Bayoumi Y., Elhawat N., Shehata S., Sztrik A., Prokisch J., Fári M., Domokos-Szabolcsy É., Pilon-Smits E. A., Selmar D., Haneklaus S., Schnug E. (2016). Selenium and nano-selenium in plant nutrition. *Environmental Chemistry Letters* (14): 123–147.
- Izydorczyk G., Ligas B., Mikula K., Witek-Krowiak A., Moustakas K., Chojnacka K. (2020). Biofortification of edible plants with selenium and iodine – A systematic literature review. *Science of the Total Environment* (754): 141983.
- Jiang Y., Zeng Z. H., Bu Y., Ren C. Z., Li J. Z., Han J. J, Tao C., Zhang K., Wang X. X., Lu G. X., Li Y. J., Hu Y. G. (2015). Effects of selenium fertilizer on grain yield, Se uptake and distribution in common buckwheat (*Fagopyrum esculantum* Moench). *Plant, Soil and Environment* (61): 371–377.
- Lachat C., Wafula P., Gijs M., Laing D. (2019). Agronomic biofortification of maize and beans in Kenya through selenium fertilization. *Environmental Geochemistry and Health* (41): 2577–2591.
- Lara T. S., Lessa J. H. de L., de 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 Composition and Analysis* (81): 10–18
- Malagoli M., Schiavon M., Dall'Acqua S., Pilon-Smits E. A. H. (2015). Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. *Frontiers in Plant Science* (6): 1–5.
- Manojlović M., Lončarić Z. (2017). Selenium deficiency in regional soils affecting animal and human health. In: *The Nexus of Soils, Plants, Animal and Human Health*. Singh B.A., McLaughlin M.J., Brevik E. C. (eds.). Catena Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart. 87–98.
- Manojlović M., Lončarić Z., Čabilovski R., Popović B., Karalić K., Ivezić V., Ademi A., Singh B. R. (2019). Biofortification of wheat cultivars with selenium. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science* (69): 715–724.
- Nancharaiah Y. V., Lens P. N. L. (2015). Ecology and Biotechnology of Selenium-Respiring Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* (79): 61–80.

- Petković K., Manojlović M., Čabilovski R., Krstić Đ., Lončarić, Z., Lombneas, P. (2019). Foliar application of selenium, zinc and copper in alfalfa (*Medicago sativa* L.) biofortification. *Turkish Journal of Field Crops* (24): 81–90.
- Pezzarossa B., Remorini D., Gentile M. L., Massai R. (2012). Effects of foliar and fruit addition of sodium selenate on selenium accumulation and fruit quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (92): 781–786.
- Rayman M. P. (2012). Selenium and human health. *The Lancet* (379): 1256–1268.
- Schiavon M., Berto C., Malagoli M., Trentin A., Sambo P., Dall'Acqua S., Pilon-Smits E. A. H. (2016). Selenium biofortification in radish enhances nutritional quality via accumulation of methyl-selenocysteine and promotion of transcripts and metabolites related to glucosinolates, phenolics amino acids. *Frontiers in Plant Science* (7): 1371
- Schiavon M., Nardi S., dalla Vecchia F., Ertani A. (2020). Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition. *Plant and Soil* (453): 245–270.
- Stoffaneller R., Morse N. L. (2015). A review of dietary selenium intake and selenium status in Europe and the Middle East. *Nutrients* (7): 1494–1537.
- Wang J., Wang Z., Mao H., Zhao H., Huang D. (2013). Increasing Se concentration in maize grain with soil – or foliar applied selenite on the Loess Plateau in China. *Field Crops Research* (150): 83–90.
- Winkel L. H. E., Vriens B., Jones G. D., Schneider L. S., Pilon-Smits E., Bañuelos G. S. (2015). Selenium cycling across soil-plant-atmosphere interfaces: A critical review, *Nutrients* (7): 4199–4239.

## **Učinkovitost agronomske biofortifikacije selenom: I. Utjecaj načina aplikacije selena**

### **Sažetak**

Selen je esencijalni element za ljude i životinje dok je biljkama benefician. Pothranjenost ljudi selenom ima negativne posljedice na zdravlje ljudi, pri čemu su biljke značajan izvor selena čije se povećanje može postići biofortifikacijom. Biofortifikacija se može provesti na dva načina: gnojidbom (agronomska biofortifikacija) i oplemenjivanjem biljaka (genetska biofortifikacija). Različite su metode agronomske biofortifikacije, a najčešće su korištene folijarna i aplikacija u tlo. Iz proučene literature zaključeno je da je folijarna primjena Se učinkovitija (čak do 60 puta veći sadržaj Se od kontrole) i prema tome ekonomski opravdana mjera za povećanje sadržaja Se u biljkama za razliku od primjene u tlo (do 33 puta veći sadržaj Se uspoređujući s kontrolom).

**Ključne riječi:** selen, biofortifikacija, metode aplikacije, gnojidba tla, folijarna aplikacija

## Efficiency of selenium agronomic biofortification: II. The influence of the form of selenium

Lucija Galić<sup>1</sup>, Tomislav Vinković<sup>1</sup>, Franjo Nemet<sup>1</sup>, Katarina Perić<sup>1</sup>, Ivona Kučera<sup>2</sup>, Zdenko Lončarić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josipa Jurja Strossmayera in Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek, Croatia (lprebeg@fazos.hr)

<sup>2</sup>Centre for Applied Life Sciences Healthy Food Chain Ltd, Vladimira Preloga 1, Osijek, Croatia

### Abstract

Selenium is a metalloid and exist in different oxidation stages: selenate ( $\text{Se}^{6+}$ ), selenite ( $\text{Se}^{4+}$ ), selenide ( $\text{Se}^{2-}$ ) and elemental selenium ( $\text{Se}^0$ ). Se is essential for humans, but beneficial to plants. Because of low Se content in soil, the most food of plant origin is also poor in Se and therefore human diet does not provide enough selenium. Se is similar to sulfur (S) and uses its path to enter the plant. Se is found in organic and inorganic form. The main organic forms are selenomethionine (SeMet) and selenocysteine (SeCys). Selenate and selenite are the most commonly used forms of Se for fertilization. Selenate is more effective to increase total Se content in plants compared to selenite.

**Key words:** selenium, biofortification, selenate, selenite

### Introduction

Se content in food and beverages varies geographically both within and between countries (Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008). Se is an essential trace element for animals and humans (Bañuelos et al., 2015). Low intake of Se in diet may cause a several diseases such as heart diseases, hypothyroidism, reduced male fertility, weakened immune system, enhanced susceptibility to infection and cancer (Malagoli et al., 2015). Se levels in soil affect the Se content of plants (Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008.). Plants take up inorganic (selenate, selenite and elemental Se) and organic (e.g. Se-amino acids) Se species, but not selenides (Schiavon et al., 2020). The major organic forms are selenocysteine (SeCys) and selenomethionine (SeMet) (Gupta and Gupta, 2017). The mobility and plant bioavailability of Se in soils is controlled by a number of chemical and biochemical processes: sorption, desorption, formation of organic and inorganic complex, precipitation, dissolution and methylation to volatile compounds. Total soil Se content is not a useful index of plant-available Se and it cannot be used as a reliable parameter in risk assessment or the determination of Se supplementation need (Bañuelos et al., 2015).

### Selenium in environment

The largest reservation of selenium on Earth are sulfide ores, pyrite, and high-sulfur coals. Geologic and anthropogenic sources release selenium as  $\text{SeO}_4^{2-}$  into the environment (Nancharaiah and Lens, 2015). Northern European countries are among the low-Se regions, particularly the Scandinavian countries. Regionally, shales are the primary sources of high Se soils in China, parts of California, Colorado, South Dakota and Wyoming (Bañuelos et al., 2015). Se occurs in organic and inorganic forms. The main organic forms are selenomethionine (SeMet) and selenocysteine (SeCys). Figure 1 shows organic forms of Se: SeMet and SeCys. The inorganic forms are selenite ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ), selenide ( $\text{Se}^{2-}$ ), selenate ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) and the Se element ( $\text{Se}^0$ ) (Mehdi et al., 2013). The predominant form of Se extracted with enzymatic hydrolysis

is generally organic: selenomethionine (SeMet) in biofortified wheat, methylselenocysteine (MeSeCys) in carrots, broccoli and anion,  $\gamma$ -glutamyl-Se-selenomethyl-selenocysteine ( $\gamma$ -Glu-MeSeCys) in carrots and anion (Winkel et al., 2015).

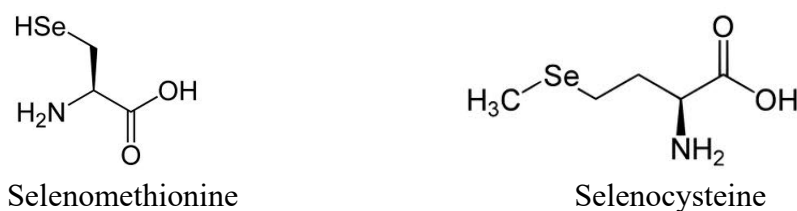


Figure 1. The main organic forms of Se: selenomethionine (SeMet) and selenocysteine (SeCys)

### Agronomic biofortification

Biofortification, as an agronomic-based strategy, can be utilized to produce Se-enriched food products that may help reduce dietary deficiencies of Se (Bañuelos et al., 2015). Capacity to accumulate Se differs between plant species, which likely correlates with their expression levels of sulfate transporters. Plant species also vary with respect to which forms of Se they accumulate due to the presence and activity of various S/Se metabolic enzymes. Se biofortification efforts may make use of variation between plant species, and choose crop species that naturally tend to contain higher Se (and sulphur) levels (Malagoli et al., 2015).

### Forms of Se for biofortification

Biofortification of crops with Se strongly depends on the chemical, physical and biological properties of the soil (Winkel et al., 2015). Se is found in soils in the form of elemental Se, such as selenite salts and ferric selenite or in its organic form. Selenite ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) and selenate forms ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) are common in most soils (Mehdi et al., 2013) and are two major types of exogenous Se fertilizer (Deng et al., 2017). Selenate, which is more soluble than selenite, can directly pass into plant roots (Funes-Collado et al., 2013). Selenite is less bioavailable when is applied into the soil due to adsorption onto ferric soil minerals or accumulation in plant tissue that is not part of human diet (Deng et al., 2017). Se in the form of selenate and selenite is taken up by plants and mainly transformed into SeMet in cereal grains (Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008). Supplementation with selenate resulted in a higher total Se content in vegetables compared to enrichment with selenite or selenomethionine (Pezzarossa et al., 2012). Selenate is several times more effective than the selenite forms in raising the Se concentration in livestock feed crops (Winter et al., 1993). Soil conditions such as pH, Eh (soil reduction potential), soil texture, and the contents of iron oxide/hydroxides and organic matter have a significant influence on the bioavailability of Se to plant uptake (Hawkesford and Zhao, 2007). In alkaline soils, Se mostly exists as selenate whereas, in acidic soils it exists as selenite. Both forms of Se differ in terms of their mobility and absorption within the plant and are metabolized to form selenocompounds (Gupta and Gupta, 2017). Plant roots can take up Se as selenate, selenite or organic Se compounds, such as selenocysteine (SeCys) and selenomethionine (SeMet), but colloidal elemental Se or metal selenides cannot be taken up by plants (White et al., 2009). Studies has shown that plant take up Se also as nano-selenium (El-Ramady et al., 2016). Generally, the most soluble and bioavailable form of Se is selenate and it is predominant in alkaline and well-oxidized soils (Schiavon and Pilon-Smits, 2017). Selenate competes with sulphate transport in the root plasma membrane and it is much more abundant in leaves than selenite. Plants absorb inorganic Se and its metabolized in a variety of ways to organic Se compounds, the distinct

molecular structure of which depend on the plant species (Funes-Collado et al., 2013). In plants, both selenate and selenite transport processes are energy-driven (Schiavon and Pilon-Smits, 2017). Selenate is taken up by plants ten times more than selenite (Mehdi et al., 2013). Following its uptake into root cells, selenate moves through the symplast to the stele and is loaded into the xylem for transport to the shoot, whereas selenite is converted to organoselenium compounds (White, 2018). Difference in intake between selenate and selenite is that  $\text{Se}^{6+}$  is more bioavailable. The selenate application resulted in a higher Se content in winter wheat, common buckwheat, spinach and turnip as compared to selenite (Izydorczyk et al., 2020). In research it has been found that in adequate concentration Se can be beneficial to plants by increasing plant productivity. For instance, high yields were found in wheat, carrot and rice. Furthermore, studies showed increasing accumulation of shoot biomass in wheat and maize (Lara et al., 2019). Studies have shown that Se at low doses protect the plants from variety of abiotic stresses such as cold, drought, desiccation and metal stress (Gupta and Gupta, 2017). Selenate received better uptake into the plant than selenite (Selenate/Selenite in Table 1.).

Table 1. Plants uptake of selenium considering different types (form) of selenium

crop	form	g Se ha <sup>-1</sup>	µg Se kg <sup>-1</sup> grain	Selenate/ Selenite	reference
wheat		20	72	–	Ducsay et al. (2016)
barley		40	76	–	Gupta et al. (1993)
rice	Selenite	75	440	–	Deng et al. (2017)
wheat		20	445	6.18	Ducsay et al. (2016)
barley		40	959	12.62	Gupta et al. (1993)
rice	Selenate	75	780	1.77	Deng et al. 2017

Se application in selenate form resulted in 6 times higher concentration of Se in wheat grain and 12 times higher in barley grain than application in selenite form. Se application in selenate form was also more effective than selenite form considering Se content in rice grain (Table 1), although differences were lower (almost 2 times higher).

### Acknowledgment

This research was financially supported by the project „Application of Nanobiotechnology for Nutritional Supplementation with Selenium – (HRZZ-IP-2018-01-8119)“ and work of doctoral student Lucija Galić was supported through grant HRZZ-DOK-2020-01-1288 financed by Croatian Science Foundation.

### References

- Bañuelos G. S., Lin Z., Broadley M. (2015). Selenium biofortification. *Global Advances in Selenium Research from Theory to Application*: 145–145.
- Deng X., Liu K., Li, M., Zhang W., Zhao X., Zhao Z. (2017). Field Crops Research Difference of selenium uptake and distribution in the plant and selenium form in the grains of rice with foliar spray of selenite or selenate at different stages. *Field Crops Research* (211): 165-171.
- Ducsay L., Ložek O., Marček M., Varényiová M., Hozlár P., Lošák T. (2016). Possibility of selenium biofortification of winter wheat grain. *Plant, Soil and Environment* (62): 379–383.
- El-Ramady H., Abdalla N., Taha H.S., Alshaal T., El-Henawy A., Faizy S. E. D. A., Shams M. S., Youssef S.M., Shalaby T., Bayoumi Y., Elhawati N., Shehata S., Sztrik A., Prokisch J., Fári M., Domokos-Szabolcsy E., Pilon-Smits E.A., Selmar D., Haneklaus S., Schnug E. (2016). Selenium and nano-selenium in plant nutrition. *Environmental Chemistry Letters* (14): 123–147.
- Funes-Collado V., Morell-Garcia A., Rubio, R., López-Sánchez J. F. (2013). Selenium uptake by edible plants from enriched peat. *Scientia Horticulturae* (164): 428–433.



- Gupta U. C., Winter K. A., Sanderson J. B. (1993). Selenium content of barley as influenced by selenite- and selenate-enriched fertilizers. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* (24): 1165-1170.
- Gupta M., Gupta S. (2017). An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. *Frontiers in Plant Science* (7): 1–14.
- Hawkesford M. J., Zhao F. J. (2007). Strategies for increasing the selenium content of wheat. *Journal of Cereal Science* (46): 282–292.
- Izydorczyk G., Ligas B., Mikula K., Witek-Krowiak A., Moustakas K., Chojnacka K. (2020). Biofortification of edible plants with selenium and iodine – A systematic literature review. *Science of the Total Environment* (754): 141983.
- Lara T. S., Lessa J. H. de L., de 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 Composition and Analysis* (81): 10–18
- Malagoli M., Schiavon M., Dall'Acqua S., Pilon-Smits E. A. H. (2015). Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. *Frontiers in Plant Science* (6): 1–5.
- Mehdi Y., Hornick J.L., Istasse L., Dufresne I. (2013). Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules* (18): 3292–3311.
- Nancharaiyah Y. V., Lens P. N. L. (2015). Ecology and Biotechnology of Selenium-Respiring Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* (79): 61–80.
- Navarro-Alarcon M., Cabrera-Vique C. (2008). Selenium in food and the human body: A review. *Science of the Total Environment* (400): 115–141.
- Pezzarossa B., Remorini D., Gentile M. L., Massai R. (2012). Effects of foliar and fruit addition of sodium selenate on selenium accumulation and fruit quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (92): 781–786.
- Schiavon M., Nardi S., Dalla Vecchia F., Ertani A. (2020). Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition. *Plant and Soil* (453): 245–270.
- Schiavon M., Pilon-Smits E. A. H. (2017). The fascinating facets of plant selenium accumulation – biochemistry, physiology, evolution and ecology. *New Phytologist* (213): 1582–1596.
- White P. J., (2018). Selenium in soils and crops. *Molecular and Integrative Toxicology* 29–50.
- White P. J., Broadley M. R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine – Research review. *New Phytologist* (182): 49–84.
- Winkel L. H. E., Vriens B., Jones G. D., Schneider L. S., Pilon-Smits E., Bañuelos G. S. (2015). Selenium cycling across soil-plant-atmosphere interfaces: A critical review, *Nutrients* (7): 4199-4239.

## Učinkovitost agronomske biofortifikacije selenom: II. Utjecaj oblika selena

### Sažetak

Selen je metaloid koji može biti u različitim stupnjevima oksidacije: selenat ( $\text{Se}^{6+}$ ), selenit ( $\text{Se}^{4+}$ ), selenid ( $\text{Se}^{2-}$ ) i elementarni selen ( $\text{Se}^0$ ). Selen je esencijalan za ljude, a biljkama je beneficijalan. Sadržaj selena u hrani pozitivno korelira sa sadržajem selena u tlima i u uvjetima niskog sadržaj i raspoloživosti selena u tlima, hrana biljnog podrijetla također je siromašna selenom pa prehranom ljudi nije osigurana potrebna količina selena. Nedovoljan unos Se u prehrani utječe na nekoliko bolesti u ljudi. Selen je sličan sumporu i koristi njegov put za ulazak u biljku, a u tlu i biljkama može biti u organskom i anorganskom obliku. Glavni organski oblici su selenometionin (SeMet) i selenocistein (SeCys). Selenat i selenit su najčešće korišteni oblici Se za gnojidbu i agronomsku biofortifikaciju. Selenat ( $\text{Se}^{6+}$ ) je učinkovitiji od selenita ( $\text{Se}^{4+}$ ) u gnojidbi s ciljem povećanja koncentracije Se u biljkama.

**Ključne riječi:** selen, biofortifikacija, selenat, selenit

## Mapping of soil chemical properties immediately after fire in Mediterranean Croatia

Iva Hrelja, Ivana Šestak, Aleksandra Perčin, Igor Bogunović

*University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Croatia (ihrelja@agr.hr)*

### Abstract

Wildfires are a common occurrence in the Mediterranean and geostatistical methods offer the opportunity to effectively monitor their impacts on various soil properties. The goal of this study was to compare Inverse distance weighting with the power of one and two, Ordinary kriging and Empirical Bayesian kriging to determine the most accurate interpolation method for mapping the soil pH, electrical conductivity and organic matter content after a wildfire in Mediterranean Croatia. The results suggested that Ordinary kriging would be the optimal choice for soil pH, while Empirical Bayesian kriging proved more accurate for soil electrical conductivity and organic matter content.

**Keywords:** Soil organic matter, wildfire, spatial variability, geostatistics, GIS

### Introduction

Wildfires are part of the natural dynamics of the Mediterranean ecosystems (Keeley et al., 2011). However, the research of spatial variability of post-fire soil properties has not been conducted so far in the pedological and climatic conditions of Mediterranean Croatia. Precise marking of sample points opens the possibility of mapping and describing the spatial variability of soil properties after a wildfire. In soil science, interpolation methods such as Inverse Distance Weighting (IDW) and Ordinary Kriging (OK) are often used, depending on the soil properties of interest and number of sampling points, i.e. the distance between them (Bogunovic et al., 2014). IDW is a deterministic and exact interpolator which estimates the unknown points based on nearby known points. Consequently, data points spaced closely together have more weights than distant points (Hengl, 2009). OK is a stochastic interpolator that provides linear unbiased estimation for spatially dependent variables. It weights the surrounding measured values to obtain a prediction of unknown points (Bodaghabadi, 2018). According to some authors (Kravchenko 2003; Zimmerman et al. 1999), kriging outperforms IDW in situations where the sampling pattern is regular and spatial correlation is high, and IDW performs better in cases where data points are more sparse and the spatial structure of the sampling grid is not uniformed. In addition, Empirical Bayesian Kriging (EBK) interpolator has been used in situations where obtained data is not compliant with standard geostatistical model assumptions, such as data stationarity and normal Gaussian distribution (Gribov and Krivoruchko, 2020). EBK produces multiple semivariograms from the input data and builds local models on subsets of data points, and ultimately merges these estimated models.

Many studies emphasize the benefits of implementing a number of different approaches when conducting spatial analysis of soil properties (Bogunovic et al., 2014; Pereira et al., 2013). Therefore, in this study the goal was to determine the most suitable interpolation method for mapping the spatial variability of soil pH, electrical conductivity (EC) and organic matter (OM) content after a wildfire in Croatia by comparing IDW-1 (IDW with the power of one), IDW-2 (IDW with the power of two), OK and EBK methods.

## Materials and methods

The wildfire affected a mixed *Quercus ssp.* and *Juniperus ssp.* forest in August 2019, in Zadar county, Croatia. A total of 60 samples were collected 5 days post-fire on an area of approximately 13.5 ha. Fire severity was medium to high (according to Úbeda and Outeiro, 2009), and the burned land appeared as a mosaic of completely burned vegetation with spots of white ash (indicating high wildfire severity) alternating with partially burned vegetation with black ash (indicating medium severity). According to the characteristics of the burned area, soil samples (0-5 cm) were divided in three categories; C – control samples, unaffected by fire (n=20); HS – high severity samples, from locations where complete foliage and trunk combustion occurred and the soil was covered with white ash (n=20); MS – medium severity samples, with partial foliage and trunk combustion and soil covered with black ash (n=20), as seen in Figure 1. Soil type was Cambisol (according to World Reference Base - WRB).

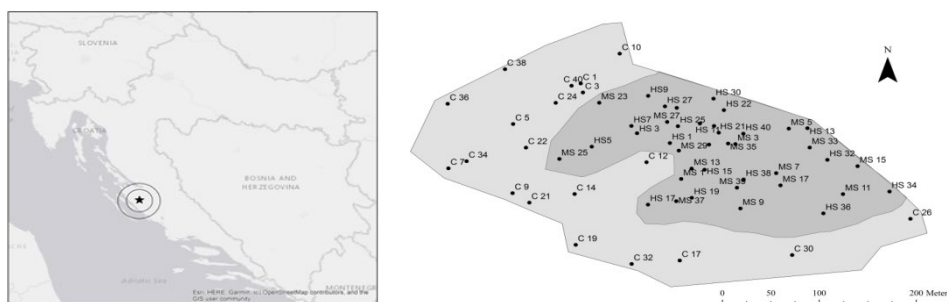


Figure 1. Study area in Zadar County. The darkened gray area on the image on the right indicates the range of the wildfire. C-Control; MS – Medium Severity; HS-High Severity

Soil samples were air dried and sieved through a 2 mm mesh, after which soil pH, EC and OM content were determined using standard laboratory methods. Descriptive statistics (minimum, maximum, mean, standard deviation, coefficient of variation, skewness and kurtosis) were calculated for the selected soil properties using Statistica 12.0 software (StatSoft, Inc., USA). Data normality was checked visually using histograms and statistically via Kolmogorov-Smirnov (K-S) test, and then transformed when needed to achieve data normality. The geostatistical analysis and mapping was performed using ArcGis 10.7 (ESRI, 2019) and Geostatistical Analyst tool available within the software. The datasets was checked for anisotropy using directional semivariograms. The spatial dependence of the soil properties was evaluated using nugget to sill ratio. According to Chien et al. (1997), if the ratio is <25% the variable has strong spatial dependence, and if it is >75% is considered as weak spatial dependence. Afterwards, the values for sites not sampled was evaluated using four different interpolation methods; IDW-1, IDW-2, OK and EBK. In each interpolation a maximum of 5 neighbours were included and weights were assigned in a search neighborhood divided in 4 sectors with 45° offset. The accuracy of interpolated maps was assessed via mean error (ME) and root mean square error (RMSE).

## Results and discussion

The mean values of soil pH, EC and OM were 6.89, 283.4  $\mu\text{S cm}^{-1}$  and 8.84%, respectively. Among all properties, soil EC had the highest CV value (92.26%), which revealed its high variability. The CV value for soil pH (5.34%) revealed low, while CV value for OM (50.76%) showed moderate variability (according to Zhang et al., 2007).

Soil EC and OM failed the K-S test and the original data for EC was log transformed while OM was transformed using Box-Cox transformation. Soil pH did not require any

transformation (Table 1). Categorical random sampling method resulted in a rather uneven sampling grid, where some data points were spaced much closer together than others. This is due to the post-fire topography of the terrain, where the wildfire left a distinctive mosaical pattern of white and black ash, differentiating high and medium severity locations. Furthermore, after examining the experimental variograms of soil pH and EC in different directions it became apparent that the data is not isotropic, but rather anisotropic. The data for OM was isotropic.

Table 1. Descriptive statistics for original and transformed data of investigated soil properties

Data	Mean	Min	Max	Std.Dev.	CV (%)	Skewness	Kurtosis	K-S test <i>p</i>
pH (-log [H <sup>+</sup> ])								
Original	6.89	6.12	7.77	0.37	5.34	0.266	-0.471	>0.2
EC (μS cm <sup>-1</sup> )								
Original	283.40	40.90	1089.00	261.47	92.26	1.444	1.232	<0.01
Log-transformed	2.29	1.61	3.04	0.36	15.90	0.461	-0.970	>0.2
OM (%)								
Original	8.84	4.68	23.89	4.49	50.76	2.054	3.504	<0.01
Box-cox transformation	0.58	0.56	0.60	0.01	1.73	0.185	-0.302	>0.2

The best-fitted variograms were characterized by their nugget, sill, range and nugget to sill ratio (Table 2). The nugget to sill ratio for soil pH, EC and OM was 51.57%, 73.93% and 74.54%, respectively, and indicated a moderate spatial dependence (according to Bogunovic et al., 2014). The relatively high nugget to sill ratios for soil EC and OM indicate that a lot of variability could not be explained by observed spatial dependence of the variable (as explained by Kravchenko, 2003). However, in a study by Amaral and Justina (2019), the authors came to a conclusion that sparse datasets diminish the spatial dependence evaluation. Therefore, collecting more data points would possibly greatly improve the spatial dependence evaluation. Upon further examination of the spatial characteristics via experimental variograms, a nugget effect was detected for soil EC data. Namely, the recorded nugget for EC was 0.52, which also indicated possibly undetected small-scale variability between the sampling intervals.

Table 2. Best-fitted variogram characteristics for chosen soil properties

Soil property	Model	Nugget	Sill	Nugget:Sill (%)	Range (m)
pH(-log [H <sup>+</sup> ])	Gaussian	0.08	0.15	51.57	240.9
EC (μS/cm)	Spherical	0.52	0.13	73.93	267.3
OM (%)	Gaussian	0.000091	0.00012	74.54	587.71

Table 3. Accuracy of the interpolation methods. Numbers in bold represent the most accurate method

Soil property		Method			
		IDW-1	IDW-2	OK	EBK
pH	ME	0.0083	0.0016	0.0066	0.0041
	RMSE	0.3403	0.3533	0.3391	0.3418
EC	ME	-0.0016	-0.0165	0.0010	-0.0012
	RMSE	0.3710	0.3959	0.3615	0.3556
OM	ME	0.0001	0.0002	0.0000	0.0001
	RMSE	0.0110	0.0121	0.0105	0.0101

As can be seen from Table 3, IDW-1 was more accurate than IDW-2 for all soil properties. According to Gotway et al. (1996), when a high CV is detected in data, IDW produced better results when a power of one was used, as was confirmed in our study. OK was the most accurate for soil pH (RMSE=0.3391). OK for interpolating soil EC and OM outperformed IDW-1. These findings are in accordance with a study by Robinson and Metternicht (2006) who also found that OK performed better than IDW-1 in pH and EC interpolation, and in OM interpolation both OK and IDW-1 performed equally well (recorded RMSE was 1.438 for both methods).

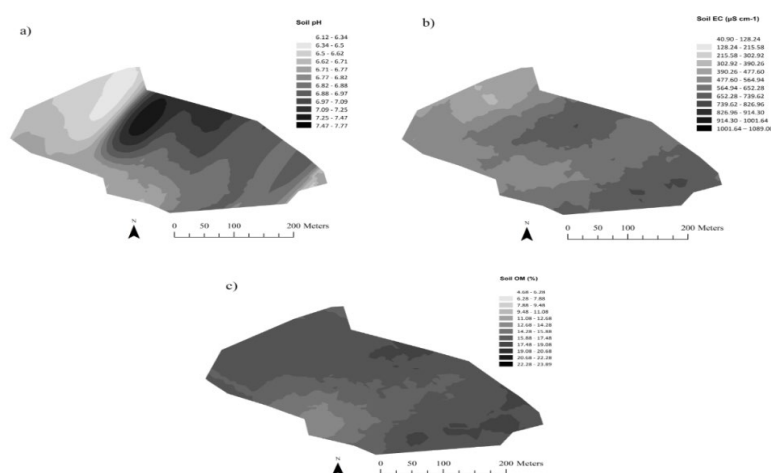


Figure 2. Most accurate interpolator for a) pH (OK), b) EC (EBK) and c) OM (EBK)

EBK outperformed both IDW-1 and OK in soil EC and OM interpolation (RMSE = 0.3556 and 0.0101, respectively). Studies show that by producing multiple local models in highly variable datasets that do not comply with standard geostatistical model assumptions, EBK is able to better predict the spatial continuity of the variables of interest to researchers (Gribov and Krivoruchko, 2020). In this study, EBK performed better possibly because of the recorded weaker spatial dependence in soil EC and OM, and because data variability was rather high throughout the dataset.

## Conclusions

The randomness of the sampling grid caused by the distinctive post-fire terrain features, accompanied by anisotropic and limited ( $n=60$ ) data was possibly the reason EBK proved to be more accurate method than IDW-1 and OK in soil EC and OM interpolation. The relatively high nugget to sill ratios for soil EC and OM (73.93% and 74.54%, respectively) revealed a rather weak spatial dependence, which could possibly be improved by collecting more data points. OK was the best model for soil pH interpolation (RMSE=0.3391), possibly because the data was more spatially dependent (nugget to sill ratio=51.57%) and normally distributed. This study confirms the suitability of EBK method for interpolation of datasets with rapidly changing variation and defiance to geostatistical model assumptions.

## Acknowledgements

This work was supported by Croatian Science Foundation through the project "Soil erosion and degradation in Croatia" (UIP-2017-05-7834) (SEDCRO). The authors would like to thank Prof. Paulo Pereira from Mykolas Romeris University, Vilnius, Lithuania for his invaluable contribution and expert advice on methodology and setting up the study field.

## References

- Amaral L. R. D., Justina D. D. D. (2019). Spatial dependence degree and sampling neighborhood influence on interpolation process for fertilizer prescription maps. *Engenharia Agrícola*, 39: 85-95.
- Bodaghabadi M. B. (2018). Is it necessarily a normally distributed data for kriging? A case study: soil salinity map of Ghahab area, central Iran. *Desert* 23(2): 284-293.
- Bogunovic I., Mesic M., Zgorelec Z., Jurisic A., Bilandzija D. (2014). Spatial variation of soil nutrients on sandy-loam soil. *Soil and tillage research* 144: 174-183.
- Chien Y. J., Lee D. Y., Guo H. Y., Houg K. H. (1997). Geostatistical analysis of soil properties of mid-west Taiwan soils. *Soil science* 162(4): 291-298.
- Gotway C. A., Ferguson R. B., Hergert G. W., Peterson T. A. (1996). Comparison of kriging and inverse-distance methods for mapping soil parameters. *Soil Science Society of America Journal* 60(4): 1237-1247.
- Gribov A., Krivoruchko, K. (2020). Empirical Bayesian kriging implementation and usage. *Science of The Total Environment* 722: 137290.
- Hengl T. (2009). Geostatistical mapping. In *A practical guide to geostatistical mapping*, 1-25. Amsterdam, Netherlands: University of Amsterdam.
- Keeley J. E., Pausas J. G., Rundel P. W., Bond W. J., Bradstock R. A. (2011). Fire as an evolutionary pressure shaping plant traits. *Trends in plant science* 16(8): 406-411.
- Kravchenko A. N. (2003). Influence of spatial structure on accuracy of interpolation methods. *Soil Science Society of America Journal* 67(5): 1564-1571.
- Pereira P., Cerdà A., Úbeda X., Mataix-Solera J., Martín D., Jordán A., Burguet M. (2013). Spatial models for monitoring the spatio-temporal evolution of ashes after fire-a case study of a burnt grassland in Lithuania. *Solid Earth* 4(1): 153-165.
- Robinson T. P., Metternicht G. M. (2006). Testing the performance of spatial interpolation techniques for mapping soil properties. *Computer and Electronics in Agriculture* 50: 97-108.
- Úbeda X., Outeiro L. (2009). Physical and Chemical Effects of Fire on Soil. In *Fire Effects on Soils and Restoration Strategies*, Úbeda X., Robichaud P.R. (Eds.), 105–132. Enfield, New Hampshire, US: Science Publishers.
- Zhang X. Y., Sui Y. Y., Zhang, X. D., Meng K., Herbert S. J. (2007). Spatial variability of nutrient properties in black soil of northeast China. *Pedosphere* 17(1): 19-29.
- Zimmerman D., Pavlik C., Ruggles A., Armstrong M. P. (1999). An experimental comparison of ordinary and universal kriging and inverse distance weighting. *Mathematical Geology* 31(4): 375-390.

## Kartiranje kemijskih svojstava tla neposredno nakon požara u mediteranskoj Hrvatskoj

### Sažetak

Požari su česta pojava na Mediteranu, a geostatističke metode pružaju priliku za učinkovito praćenje njihovih učinaka na različita svojstva tla. Cilj ovog istraživanja bio je usporediti inverziju na udaljenost (IDW), običan kriging (OK) i empirijski Bayesov kriging (EBK) kako bi se utvrdila najprikladnija metoda interpolacije za vizualizaciju promjena pH tla, električne vodljivosti (EC) i sadržaja organske tvari (OM) u tlu nakon požara u mediteranskoj Hrvatskoj. Rezultati sugeriraju da bi običan kriging bio optimalan izbor za pH tla, dok se empirijski Bayesov kriging pokazao točnijim za električnu vodljivost i sadržaj organske tvari u tlu.

**Ključne riječi:** Organska tvar tla, šumski požar, prostorna varijabilnost, geostatistika, GIS

## Gospodarski potencijal poljoprivrednih ostataka na području Osječko-baranjske županije

Sanja Jelić Milković<sup>1</sup>, Ružica Lončarić<sup>1</sup>, Tihana Sudarić<sup>1</sup>, Jadranka Deže<sup>1</sup>, Zdenko Lončarić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (sanja.jelic@fazos.hr)

### Sažetak

Cilj rada je utvrditi gospodarski potencijal poljoprivrednih ostataka najvažnijih žitarica (pšenica, ječam i kukuruz) i uljarica (suncokret i uljana repica) na području Osječko-baranjske županije te utvrditi njihov tehnički potencijal iskorištenja. Istraživanje je provedeno na temelju dostupnih statističkih podataka za 2019. godinu i pregleda literature kako bi se utvrdile prikladne metode izračuna potencijala iskorištenja žetvenih ostataka najvažnijih ratarskih kultura u Županiji. Na temelju dostupnih podataka izračunat je tehnički potencijal žitarica u 2019. godini koji je iznosio 445.030,11 t, a uljarica 73.482,15 t. Rezultati istraživanja pokazuju da su u Osječko-baranjskoj županiji dostupne velike količine biomase za daljnju preradu koje nažalost nisu još uvijek dovoljno iskorištene.

**Ključne riječi:** poljoprivredni ostaci, biomasa, tehnički potencijal, Osječko-baranjska županija

### Uvod

Zemlje Europske unije godišnje proizvedu 1,3 milijarde tona otpada od čega 700 milijuna tona čini poljoprivredni otpad (Toop i sur., 2017.). Većina otpada iz poljoprivredne djelatnosti i industrije se spaljuje ili se ne zbrinjava na odgovarajući način i upravo nepravilno zbrinjavanje otpada iz poljoprivredne djelatnosti predstavlja ekološki i klimatski problem koji ima štetan utjecaj na zdravlje ljudi i životinja (Sadh i sur., 2018.). Korištenjem poljoprivrednog otpada kao sirovine mogu se smanjiti troškovi proizvodnje, opterećenje i zagađenje okoliša jer su poljoprivredni ostaci bogati bioaktivnim spojevima te se mogu koristiti kao alternativni izvor za proizvodnju različitih proizvoda kao što su: bioplin, biogorivo, gnojivo, supstrat za uzgoj gljiva, malč, za proizvodnju tempeha te kao sirovina u raznim industrijama (Sadh i sur., 2018.). Poljoprivredni ostaci odnose se na dio biljnog materijala koji ostaje nakon žetve poput slame, stabljike i lišća. Ostatke možemo podijeliti na primarne i na sekundarne poljoprivredne ostatke (Golubić i sur, 2018.). Primarni poljoprivredni ostaci ostaju na tlu nakon žetve ili rezidbe i sakupljanja plodova (voćnjaci i vinogradi), a sekundarni ostaci nastaju preradom te se u njih ubrajaju melasa, pulpa, kora, korijen, ljuške itd. I primarni i sekundarni poljoprivredni ostaci koriste se kao hrana ili podloga u stočarstvu, vraćaju u tlo radi poboljšanja svojstava tla ili u daljnjoj preradi za proizvodnju energije (Baruya, 2015.; Golubić i sur, 2018.). Za većinu usjeva primarni ostaci proizvode se u količinama približno jednakim težini stvarne proizvodnje usjeva, a količina sekundarnih ostataka varira ovisno o usjevima i metodama prerade (Baruya, 2015.). Cilj rada je utvrditi gospodarski potencijal poljoprivrednih ostataka najvažnijih žitarica i uljarica na području Osječko-baranjske županije te utvrditi njihov godišnji potencijal iskorištenja.

## Materijal i metode

Za utvrđivanje gospodarskog potencijala odabrana je Osječko-baranjska županija jer predstavlja jedno od najintenzivnijih područja biljne proizvodnje među županijama u Republici Hrvatskoj. Izvori podataka o površinama (ha), proizvodnji (t) i prinosima (t/ha) najvažnijih ratarskih usjeva u Osječko-baranjskoj županiji u 2019. godini bili su podaci Agencije za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju (2019.; 2020.) i podaci Državnog zavoda za statistiku (2020.). Za izračunavanje tehničkog potencijala žetvenih ostataka u Osječko-baranjskoj županiji za 2019. godinu korištena je RenewIslands ADEG metodologija prema istraživanjima Scarlet i sur. (2010.), Čosić i sur. (2011.) i Asakereh i sur. (2014.). Tehnički potencijal biomase izračunat je za žetvene ostatke pšenice, ječma, kukuruza, suncokreta i uljane repice. Tehnički potencijal biomase pšenice i ječma dobije se tako da od ukupne količine žetvenih ostataka spomenutih kultura oduzmemo količinu ostataka potrebnu za gnojidbu, zaštitu tla i stočarsku proizvodnju. A, tehnički potencijal biomase kod kukuruza, suncokreta i uljane repice dobijemo tako da od ukupnog potencijala biomase oduzimamo potrebnu količinu koju je potrebno ostaviti za zaštitu tla te količine koje ostaju na polju (gubici) prilikom žetve.

## Rezultati i rasprava

Osječko-baranjska županija raspolaže s ukupno 199.813,35 ha oranica i 74.995 oraničnih parcela (APPRRR, 2020). Kukuruz i pšenica su glavne žitarice u Republici Hrvatskoj pa tako i u Osječko-baranjskoj županiji. Najveći dio obradivih površina u Osječko-baranjskoj županiji u 2019. godini bilo je zasijano pod kukuruzom 57.645,03 ha, pšenica je bila zasijana na 42.922,05 ha, a ječam na 14.672,10 ha (APPRRR, 2019.). Od uljarica u Županiji su se u 2019. godini najviše uzgajali suncokret (19.949,18 ha) i uljana repica (14.276,53 ha) (APPRRR, 2019.). Državni zavod za statistiku ne bilježi podatke o prinosima za svaku županiju pojedinačno te su za izračun tehničkog potencijala biomase korišteni prosječni podaci o prinosima u 2019. godini za Republiku Hrvatsku. Prosječni prinos pšenice u 2019. godini iznosio je 5,4 t/ha, ječma 4,3 t/ha, kukuruza 8,0 t/ha, suncokreta 2,9 t/ha i uljane repice 2,5 t/ha (DZS, 2020.).

U tablici 1. prikazane su karakteristike žetvenih ostataka kultura korištenih u ovom istraživanju na temelju čega je izračunat tehnički potencijal biomase (t) žetvenih ostataka za Osječko-baranjsku županiju u 2019. godini (Tablica 2 i Tablica 3).

Tablica 1. Karakteristike žetvenih ostataka

Usjev	Biomasa	Žetveni omjer	Biomasa potrebna za zaštitu tla	Biomasa potrebna za stočarstvo	Gubici pri žetvi
Pšenica	Slama	0,6-1,8	1,0 - 2,0 t/ha	0,5 -1,0 (t/grlu)	-
Ječam	Slama	0,9-1,8	1,0 - 2,0 t/ha	0,5 -1,0 (t/grlu)	-
Kukuruz	Kukuruzovina	0,9-2,3	50,0 %	-	20,0 (%)
Suncokret	Stabljika i lišće	0,7–3,5	50,0 %	-	20,0 (%)
Uljana repica	Stabljika	1,1-1,8	50,0 %	-	20,0 (%)

Izvor: Scarlet i sur. (2010.), Čosić i sur. (2011.) i Avcioglu i sur. (2019.)



Prilikom uklanjanja žetvenih ostataka s polja treba se voditi računa o zadovoljavanju održivosti poljoprivredne proizvodnje jer poljoprivredni ostaci imaju važnu ulogu u agronomskom sustavu i imaju izravan i neizravan utjecaj na fizikalna, kemijska i biološka svojstva tla, a prekomjerno uklanjanje ostataka može dugoročno narušiti produktivnost tla (Kyryzyuk i sur., 2020.). Tlo je neobnovljivi prirodni resurs te se s njim treba upravljati na održivi način, organske tvari poput ostataka iz ratarskih kultura su najvažniji čimbenici koji definiraju plodnost tla. Međutim, poljoprivredni ostaci osim za održavanje organske tvari u tlu mogu se koristiti i za proizvodnju energije. Primarna prednost biomase je upravo njezina obnovljivost te samim time može biti osnova za planiranje održivog razvoja koji uključuje i racionalno korištenje energije (Nakomčić-Smaragdakis i sur., 2015.). Dobra praksa gospodarenjem ostacima iz poljoprivredne proizvodnje uključuje njihovu upotrebu u očuvanju organske tvari tla i sakupljanje poljoprivrednih ostataka u cilju stvaranja dodane vrijednosti (Bilandzija i sur., 2018.). Prema istraživanju autora Bilandzija i sur. (2018.) 80 % oranica u Republici Hrvatskoj koristi se za proizvodnju ratarskih kultura što daje ukupno 3.372.205 t biomase godišnje.

Ukupni potencijal biomase predstavlja ukupnu proizvodnju žetvenih ostataka u županiji. Međutim, ukupni potencijal biomase ne može se u potpunosti iskoristiti. Dio žetvenih ostataka potrebno zaorati (30-70 %) jer su žetveni ostaci bitan izvor organske tvari za tlo uključujući opskrbu tla ugljikom (posebno slama žitarica koja predstavlja važan ne fosilni izvor ugljika), dušikom i ostalim hranjivim tvarima (Karan i Hamelin, 2020.). Žetveni ostaci također imaju bitnu ulogu za očuvanje vode u tlu i kao zaštita tla od erozije (Glavaš i sur., 2014; Bavrka i sur., 2019., Karan i Hamelin, 2020.). Dio žetvenih ostataka je potrebno ostaviti za stočarsku proizvodnju, a dio ostaje na polju zbog nemogućnosti prikupljanja (Ćosić i sur., 2011.). Tehnički potencijal žitarica i uljarica izračunat je na temelju ukupnog potencijala biomase (ukupna količina slame ili kukuruzovine). Podatke o ukupnim količinama žetvenih ostataka (slama, stabljika i lišće) nije moguće pronaći u literaturi i statističkim bazama podataka te ih je potrebno izračunati kao umnožak proizvodnje žitarica ili uljarica (t) i žetvenog omjera ili indeksa koji predstavlja odnos mase zrna prema masi slame, kukuruzovine ili stabljike i lišća. Stvarna mjerenja na terenu vjerojatno bi bila najtočnija metoda za određivanje tehničkog potencijala biomase međutim, pošto se žetvenim ostacima rijetko trguje na tržištu, a i zbog vremenskih i troškovnih ograničenja povezanih s mjerenjem ta metoda se rijetko izvodi ili se ne izvodi uopće te se za izračun tehničkog potencijala koriste statističke i empirijske metode izračuna (Karan i Hamelin, 2020.). Prinos žetvenih ostataka varira više od prinosa same kulture jer ovisi o sorti, agrotehničkim uvjetima, tehnici žetve i visini rezanja prilikom žetve (Scarlet i sur., 2010.).

Tablica 2. Tehnički potencijal pšenične i ječmene slame na području Osječko-baranjske županije u 2019. godini

Usjev	Ukupni potencijal biomase (t)	Biomasa potrebna za zaštitu tla (t)	Biomasa potrebna za stočarstvo (t)	Tehnički potencijal biomase (t)
Pšenica	370.846,51	64.383,08	47.705,40	258.758,04
Ječam	82.017,04	22.008,15	39.754,50	20.254,39

Izvor: izračun autora prema podacima Scarlet i sur. (2010.); Ćosić i sur. (2011.); Asakereh i sur. (2014.); APPRRR (2019.) i DZS (2020.); HPA (2020.)

Ukupni potencijal biomase pšenice iznosi 370.846,51 t, a ječma 82.017,04 t (Tablica 2) od ukupnog potencijala treba oduzeti dio slame koji ostaje za zaštitu tla koji u ovom izračunu iznosi 1,5 t/ha i biomasa potrebna za stočarstvo koja iznosi 0,6 t/grlu za pšeničnu slamu i 0,5 t/grlu za ječmenu slamu (Tablica 1). Ukupni potencijal biomase kukuruzovine iznosi 553.392,29 t, suncokreta 173.557,87 t, a uljane repice 71.328,65 t (Tablica 3). Tehnički potencijal kukuruzovine i žetvenih ostataka suncokreta i soje (Tablica 3) predstavlja svega 30% raspoloživih sirovina za daljnju preradu dok 70% otpada na biomasu potrebnu za zaštitu tla i gnojdbu i gubitke prilikom žetve što se poklapa s istraživanjima drugih autora (Scarlet i sur., 2010.; Ćosić i sur., 2011.; Asakereh i sur., 2014.; Glavaš i sur., 2014.; Golubić i sur., 2019.).

Tablica 3. Tehnički potencijal žetvenih ostataka kukuruza, suncokreta i uljane repice na području Osječko-baranjske županije u 2019. godini

Usjev	Ukupni potencijal biomase (t)	Biomasa potrebna za zaštitu tla (t)	Gubici pri žetvi (t)	Tehnički potencijal biomase (t)
Kukuruz	553.392,29	276.696,14	110.678,46	166.017,69
Suncokret	173.557,87	86.778,93	34.711,57	52.067,36
Uljana repica	71.328,65	35.691,33	14.276,53	21.414,80

Izvor: izračun autora prema podacima Scarlet i sur. (2010.); Ćosić i sur. (2011.); Asakereh i sur. (2014.); APPRRR (2019.) i DZS (2020.); HPA (2020.)

Dostupna količina biomase procjenjuje se na temelju omjera žetve koji za većinu žitarica iznosi 1:1 i uljarica 1:2, ovi omjeri predstavljaju vrijednosti koje su povezane s agroekološkim specifičnostima uzgojnog područja i agrotehničkim mjerama tijekom uzgoja ratarskih kultura (Bilandzija i sur., 2018.). Prema podacima u Tablica 2 i 3 najveći tehnički potencijal biomase imaju pšenica (258.758,04 t), kukuruz (166.017,69 t) i suncokret (52.067,36 t). Što se poklapa s istraživanjem Scarlet i sur. (2010.). Spomenuti autori su računali udio različitih ostataka usjeva u EU27 te je doprinos pšenice u proizvodnji slame (suha tvar) najveći (42,2 %), zatim kukuruza i ječma (18,8 %), uljane repice (6,9 %) i suncokreta (5,2 %), a za desetogodišnje razdoblje autori su ustanovili da dolazi do varijacije u proizvodnji biljnih ostataka između 200 i 305 milijuna tona (suhe tvari) na razini EU. U istraživanju Bilandzija i sur. (2018.) i Golubić i sur. (2019.) najveći tehnički potencijal, a i prinos energije po hektaru ima kukuruz (52.292 MJ/ha<sup>-1</sup>) zatim suncokret (49.191 MJ/ha<sup>-1</sup>) iako se on uzgaja na znatno manjim površinama od kukuruza i pšenice čiji prinos energije iznosi 39.730 MJ/ha<sup>-1</sup>. U Hrvatskoj se svake godine stvaraju velike količine ostataka podobnih za proizvodnju zelene energije kao što su stabljika kukuruza, pšenična i sojina slama i ostaci rezidbe vinove loze što bi osiguralo značajan porast ukupne proizvodnje energije povećao bi se i udio obnovljive energije u ukupnoj energiji i smanjio uvoz (Bilandzija i sur., 2018.). Biomasa od poljoprivrednih ostataka osim za dobivanje energije može se koristiti na niz drugih načina najčešće u poljoprivredi vraćanjem organske tvari u tlo, u povrtlarskoj proizvodnji ili u stočarstvu, kao sirovina u industriji, za proizvodnju stočne hrane, za poliranje u metalnoj industriji, u građevini kao građevni materijal ili izolacija, za kozmetičku industriju itd. (Glavaš i sur., 2014.; Nakomčić-Smaragdakis i sur., 2015.). Upotreba biomase žetvenih ostataka za vraćanje organske tvari u tlo predstavlja značajan potencijal proizvodnje organskih gnojiva i supstrata čija upotreba u biljnoj proizvodnji može značajno pridonijeti očuvanju plodnosti tala. U Osječko-baranjskoj županiji na 149.464,89 ha ostvaren je ukupni tehnički potencijal biomase 518.512,27 t, što je 41,44 % ukupnog potencijala biomase i predstavlja potencijal u proizvodnji organskih gnojiva.

## Zaključak

Biomasa iz poljoprivredne proizvodnje predstavlja jedan od najdostupnijih i ekonomski isplativih, a najmanje iskorištenih bioloških resursa. Rad je usmjeren na izračun tehničkog potencijala najvažnijih žitarica i uljarica proizvedenih u 2019. godini na području Osječko-baranjske županije. Istraživanjem je istaknuto kako je velika količina biomase dostupna na području Osječko-baranjske županije tijekom jedne godine. U 2019. godini na području Županije ostalo je dostupno za daljnju preradu 445.030,11 t biomase dobivene od žetvenih ostataka žitarica i 73.482,15 t od žetvenih ostataka uljarica. Na temelju rezultata možemo zaključiti da ostaci poljoprivredne proizvodnje imaju velik značaj te je vrlo bitan način gospodarenja istima. Neadekvatan način gospodarenja ostacima iz poljoprivredne djelatnosti ne znači samo gubitak resursa za daljnju preradu već i gubitak dijela prihoda za poljoprivredne proizvođače, dok se planskim gospodarenjem biomase, npr. u pravcu proizvodnje organskih gnojiva, može ostvariti dodana vrijednost uz značajan doprinos očuvanju okoliša i plodnosti tla.

## Napomena

Rad je rezultat istraživanja na projektu KK.01.1.1.04.0052 „Inovativna proizvodnja organskih gnojiva i supstrata za uzgoj presadnica“ kojeg financira Europska unija u okviru Operativnog programa Konkurentnost i kohezija 2014.-2020. iz Europskog fonda za regionalni razvoj.

## Literatura

- Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju - APPRRR (2020). Prikaz broja i površina ARKOD-a po naseljima i vrsti uporabe poljoprivrednog zemljišta za 31.12.2019. <https://www.aprrr.hr/arkod/> (pristupljeno 6.11.2020.)
- Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju - APPRRR (2019). Tržišne kulture. <https://www.aprrr.hr/agronet/> (pristupljeno 6.11.2020.)
- Asakereh, A., Omid, M., Alimardani, R., Sarmadian, F. (2014). Spatial Analysis the Potential for Energy Generation from Crop Residues in Shodirwan, Iran. *International Journal of u- and e-Service, Science and Technology* 7 (1): 275-284.
- Avcioglu, A. O., Dayioglu, M. A., Türker, U. (2019). Assessment of the Energy Potential of Agricultural Biomass Residues in Turkey. *Renewable Energy* 138: 610-619.
- Baruya, P. (2015). World forest and agricultural crop residue resources for cofiring. IEA Clean Coal Centre. 50-60. London, United Kingdom.
- Bavrka, I., Šakić Bobić, B., Hadelan, L., Jukić, Ž., Matković, A. (2019). Formiranje cijene koštanja žetvenih ostataka. *Journal of Central European Agriculture* 20(1): 542-555.
- Bilandzija, N., Voca, N., Jelcicm, B., Jurisic, V., Matin, A., Grubor, M., Kricka, T. (2018). Evaluation of Croatian agricultural solid biomass energy potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 93: 225–230.
- Ćosić, B., Stanić, Z., Duić, N. (2011). Geographic distribution of economic potential of agricultural and forestbiomass residual for energy use: Case study Croatia. *Energy* 36: 2017-2028.
- Državni zavod za statistiku - DZS (2020). Rane procjene važnijih ranih usjeva u 2019. [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2019/01-01-16\\_01\\_2019.htm](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2019/01-01-16_01_2019.htm) (pristupljeno 6.11.2020.)
- Državni zavod za statistiku - DZS (2020). Rane procjene važnijih kasnih usjeva u 2019. [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2019/01-01-17\\_01\\_2019.htm](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2019/01-01-17_01_2019.htm) (pristupljeno 6.11.2020.)
- Glavaš, H., Ivanović, M., Mandić, N. (2014). Resources and Possibilities of Agro Biomass Usage for Energy Purposes in Slavonia Region (Croatia). *EnergyCon 2014 / Igor Kuzle, Tomislav Capuder, Hrvoje Pandžić. Dubrovnik, Hrvatska, 13-16. 05. 2014,*
- Golubić, S., Voća, N., Plietić, S. (2018). Th eoretical Potential of Post-harvest Residues in Međimurje County for Energy. *Generation Agriculturae Conspectus Scientifi cus* . 83 (3): 223-229.

- Golubić, S., Voća, N., Pliestić, S. (2019). Multi criteria analysis of the energy potential of agricultural residues: The case study of Međimurje County in Croatia. *Spanish journal of agricultural research* 17 (4): 1-14.
- Hrvatska poljoprivredna agencija – HPA (2020). Brojno stanje domaćih životinja na dan 31.12.2019. godine. Jedinstveni registar domaćih životinja. <https://hpa.mps.hr/jrdz-baze-podataka/#publikacije> (pristupljeno 6.11.2020.)
- Karan, S.K., Hamelin, L. (2020). Crop residues may be a key feedstock to bioeconomy but how reliable are current estimation methods?. *Resources, Conservation and Recycling* 164 (2021): 105211.
- Kyryzyuk, S., Krupin, V., Borodina, O., Wał S, A. (2020). Crop Residue Removal: Assessment of Future Bioenergy Generation Potential and Agro-Environmental Limitations Based on a Case Study of Ukraine. *Energies* 13 (20): 1-23.
- Nakomčić-Smaragdakis, B., Čepić, Z., Dragutinović, N. (2015). Energetski potencijal i značaj korišćenja poljoprivredne biomase u AP Vojvodini. ETIKUM, Međunarodna naučna konferencija Novi Sad, Srbija, 19-20 Jun, 2015.
- Sadh, P. K., Duhan, S. & Duhan, J. S. (2018). Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. *Bioresources and Bioprocessing*. 5 (1): 2-15.
- Scarlet, N., Martinov, M., Dallemand, J. F. (2010). Assessment of the availability of agricultural crop residues in the European Union: Potential and limitations for bioenergy use. *Waste Management* 30: 1889-1897.
- Toop, T. A., Ward, S., Oldfield, T., Hull, M., Kirby, M. E., Theodorou, M. K. (2017). AgroCycle – developing a circular economy in agriculture. *Energy Procedia* 123, 1st International Conference on Sustainable Energy and Resource Use in Food Chains ICSEF 2017, 76-80. Berkshire, UK.

## **Economic potential of agricultural residues in the area of Osijek-Baranja County**

### **Abstract**

The aim of this paper was to investigate the economic potential of agricultural residues of the most important cereals (wheat, barley and corn) and oilseeds (sunflower and oilseed rape) in Osijek-Baranja County and to determine their technical available potential. The research was conducted based on available statistical data for 2019 and a review of the literature to determine appropriate methods for calculating the potential of harvest residues of the most important field crops in the county. Based on the available data, the technical available potential of cereals in 2019 has amounted to 445,030.11 t, and oilseed crops 73,482.15 t. The results of the research show that large quantities of biomass are available in Osijek-Baranja County for further processing, which unfortunately has not yet been sufficiently used.

**Key words:** agricultural residues, biomass, technical available potential, Osijek-Baranja County

## Utjecaj primjene komunalnog mulja na kemijska svojstva tla i prinos trave *Miscantus x giganteus*

Tomislav Karažija<sup>1</sup>, Josip Leto<sup>1</sup>, Brigita Vidaković<sup>2</sup>, Nikola Bilandžija<sup>1</sup>, Neven Voća<sup>1</sup>, Milan Poljak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska  
([tkarazija@agr.hr](mailto:tkarazija@agr.hr))

<sup>2</sup>Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska, studentica

### Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj primjene Pravilnikom dopuštenih 1,66 t ha<sup>-1</sup> suhe tvari mulja na kemijska svojstva tla i prinos miskantusa (*Miscantus x giganteus*). Istraživanje je postavljeno po shemi split plot u 4 ponavljanja i dva tretmana: T 0=0 t ST mulja ha<sup>-1</sup> i zakonski dozvoljenih T 1=1,66 t ST mulja ha<sup>-1</sup> (5482 kg ha<sup>-1</sup>). Primjena mulja statistički značajno je povećala u oraničnom (0-30 cm) sloju količinu kadmija (1,008 mg kg<sup>-1</sup>) i kobalta (21,1 mg kg<sup>-1</sup>), a u podoraničnom sloju (30-60 cm) nitrata (0,42 mg/100 g). Međutim, na tretmanu s muljem došlo je do relativnog povećanja humusa, nitrata i amonijaka u oraničnom, te humusa i amonijaka u podoraničnom sloju. Nadalje, u oraničnom sloju utvđene su relativno veće količine cinka, mangana, bakra, željeza, olova i nikla, a podoraničnom cinka, bakara, željeza, olova i kadmija. Nije utvrđen statistički značajan utjecaj na prinos miskantusa.

**Ključne riječi:** komunalni mulj, *Miscanthus x giganteus*, makroelementi, mikroelementi, teški metali

### Uvod

U današnje vrijeme zbrinjavanje muljeva otpadnih voda postaje sve važnije praktično pitanje zbog naglog porasta stanovništva u urbanim sredinama i stalnom porastu životnih standarda što uključuje značajnu potrošnju vode i njezino ispuštanje nakon korištenja (Iticescua i sur., 2018.). Gospodarenje muljem pod postojećim europskim zakonodavstvom određeno je s 3 najvažnije direktive. Republika Hrvatska donijela je vlastite zakone i podzakonske akte koji uređuju politiku gospodarenja muljem. Prema Pravilniku o gospodarenju muljem s uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi (NN 38/2008) propisana je maksimalna količina od 1,66 t ha<sup>-1</sup> suhe tvari mulja koja se može primijeniti na tlo. Mogućnost upotrebe mulja ovisi u velikoj mjeri o njegovom fizikalnom i kemijskom sastavu, a sastav u značajnoj mjeri ovisi o tehnološkom procesu pročišćavanja vode i obrade mulja (EC 2001; Usman i sur., 2012.). Stoga je karakterizacija mulja prije primjene izuzetno važna jer postoji rizik od nakupljanja toksičnih elemenata u tlu (Alvarez i sur., 2002.). Komunalni mulj može povećati produktivnost tla jer sadrži visoku količinu organske tvari i neophodnih makro i mikro elemenata. Međutim, može predstavljati ozbiljnu opasnost za zdravlje ljudi i ekosustav zbog sadržaja teških metala i organskih štetnih tvari (Usman i sur., 2012.). Korištenje komunalnog mulja smanjuje potrebe količine mineralnih gnojiva koje bi se trebale koristiti za osiguravanje rasta biljaka, a također pomaže u smanjenju problema sve većih količina mulja (Iticescua i sur., 2018.). Međutim, veliki problem predstavlja prihvaćenost takvih proizvoda od strane potrošača. Stoga je primjena komunalnog mulja prihvatljiva u šumarstvu, travnjacima i rasadnicima gdje kontaminacija teškim metalima (naročito kadmijem) ne ulazi u prehrambeni lanac (Wang i sur., 2008.), te u tom slučaju predstavlja ekološki prihvatljiv i održivi pristup upravljanju muljem otpadnih voda (Dubis i

sur., 2020.). Slijedom navedenoga zbrinjavanje mulja u uzgoju energetskih kultura predstavlja dobru alternativu sa zdravstvenog i ekološkog aspekta. Prema Christian i sur. (2008.) i Bilandžija (2015.) prirodni sterilni hibrid *Miscanthus x giganteus* iz porodice trava (Poaceae) predstavlja visokovrijednu kulturu za proizvodnju energije iz lignocelulozne biomase. Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj Pravilnikom dopuštenih 1,66 t ha<sup>-1</sup> suhe tvari komunalnog mulja na kemijska svojstva tla i prinos miskantusa.

## Materijal i metode

Pokus je postavljen u proljeće 2019. na etabliranom nasadu miskantusa (*Miscanthus x giganteus*), na lokaciji Centra za travnjaštvo Agronomskog fakulteta na Medvednici. Istraživanje je postavljeno po shemi split plot u 4 ponavljanja i dva tretmana: T 0=0 t ST mulja ha<sup>-1</sup> i zakonski dozvoljenih T 1=1,66 t ST mulja ha<sup>-1</sup> (osnovna parcelica površine 10 x 5,25 = 52,5 m<sup>2</sup>). Razmak između osnovnih parcelica bio je 3 m. Uzorkovanja tla nakon 1. vegetacije miskantusa izvršeno je 25.11.2019, pri čemu su uzeta 2 prosječna uzoraka tla – jedan iz oraničnog sloja (0-30 cm), te jedan iz podoraničnog sloja (30-60 cm). Svaki kompozitni uzorak sastojao se od 15 pojedinačnih uzoraka. Pri analizi tla korištene su sljedeće metode: pH vrijednost (HRN ISO 10390:2005), humus je određen bikromatnom metodom (po Tjurinu) (Škorić, 1982.), ukupni dušik (HRN ISO 11261:2004), NO<sub>3</sub>-N (N<sub>min</sub>) ekstrakcijom s 0,2 M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fenoldisulfonsom kiselinom (Page i sur., 1982), NH<sub>4</sub>-N (N<sub>min</sub>) ekstrakcijom s 0,2 M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Metoda po Nessleru – JDPZ, 1966), fiziološki aktivni fosfor (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) i fiziološki aktivni kalij (K<sub>2</sub>O) AL-metodom (Egner i sur., 1960), a ukupno željezo, cink, mangan, bakar, krom, nikal, olovo, kadmij, živa ekstrakcija zlatotopkom (HRN ISO 11466:2004). U pokusu je korišten kemijski, fizikalno i biološki stabilizirani komunalni mulj. Predmetni mulj je izrazito alkalne reakcije (pH=12,05), s udjelom suhe tvari od 30,28%. Uzorak mulja je bogato opskrbljen dušikom i fosforom (4,03% N u S.T.; 3,89% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> u S.T.), te slabo opskrbljen kalijem (0,61% K<sub>2</sub>O u S.T.). Analizom je utvrđena bogata opskrbljenost kalcijem (14,56% Ca u S.T.) i slaba opskrbljenost magnezijem (0,61% Mg u S.T.), te bogata opskrbljenost željezom (18177 mg/kg u S.T.) i manganom (296 mg/kg u S.T.) Prema Pravilniku o gospodarenju muljem sa uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi (NN 38/2008, Članak 5. i 6.) i Pravilniku o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 9/2014, članak 5. i 8.), koncentracije teških metala i organskih tvari (PAH, PCB i dr.) nalazile su se ispod maksimalno dopuštenih koncentracija (MDK) propisanih navedenim Pravilnicima. Patogene bakterije u predmetnom uzorku nisu izolirane. Žetva miskantusa obavljena je 7. studenog 2019. godine.

Prinos ST utvrđen je ručnim odsjecanjem biljaka (motornom pilom) na obračunskoj podparcelici 1 x 5 m na visinu 5 cm od tla, vaganjem požnjevene mase, uzimanjem poduzoraka cca 1000 g sasjeckane mase, sušenjem 48 sati na 60 °C, ponovnim vaganjem i preračunavanjem u t ha<sup>-1</sup> i % ST. Statistička obrada podataka pratila je model analize varijance (ANOVA). Korišten je program SAS System for Win. ver 9.1 (SAS Institute Inc.), a za testiranje rezultata korišten je Tukeyev test signifikantnih pragova (SAS, 2002-2003).

## Rezultati i rasprava

### Kemijska svojstva tla

Primjena mulja od 1,66 t ha<sup>-1</sup> suhe tvari nije statistički značajno utjecala na većinu istraživanih kemijskih svojstava tla (Tablice 1, 2, 3 i 4). Statistički značajan utjecaj utvrđen je u oraničnom (0-30 cm) sloju za magnezij, kadmij i kobalt, a u podoraničnom (30-60 cm) za nitrate. Količina humusa u tlu neovisno o tretmanima i dubini uzorkovanja kretala se od 1,51 % (T 0, 0-30 cm) do 2,43 (T 1, 0-30 cm). Ipak, relativno više vrijednosti utvrđene su u

obje dubine na tretmanu s muljem. Količina nitratnog iona u tlu neovisno o tretmanima i dubini uzorkovanja kretala se od 0,23 mg NO<sub>3</sub>/100 g (T 0, 30-60 cm) do 0,42 mg NO<sub>3</sub>/100 g (T 1; 0-30 i 30-60 cm). Pri tome je statistički značajno viša količina utvrđena u podoraničnom sloju na T1 (0,42 mg NO<sub>3</sub>/100 g). Količina amonijačnog iona u tlu neovisno o tretmanu i dubini uzorkovanja kretala se od 1,22 mg NH<sub>4</sub>/100 g (T 0, 0-30 cm) do 1,35 mg NH<sub>4</sub>/100 g (T 1, 0-30 cm). Relativno najviše količine utvrđene su u obje dubine na tretmanu s muljem. Količina fiziološki aktivnog magnezija u tlu neovisno o tretmanu i dubini uzorkovanja kretala se od 64,4 mg/kg (T 1, 30-60 cm) do 95,8 mg/kg (T 0, 0-30 cm). Pri tome je statistički značajno veća količina utvrđena u oraničnom sloju na kontrolnom tretmanu.

Tablica 1. Osnovna kemijska svojstva tla po tretmanima na dubini uzorkovanja 0-30 cm

tret.	dubina	pH		hum.	N	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	C	Mg
		H <sub>2</sub> O	mKCl								
T 0	0-30 cm	5,81	4,45	2,18	0,19	0,27	1,26	8,48	24,1	1,26	95,8a
T 1	0-30 cm	5,57	4,1	2,43	0,18	0,42	1,35	7,45	21,3	1,41	72,8b

Različita slova predstavljaju značajno različite vrijednosti prema Tukeyevom testu, p≤0,05. Vrijednosti kojima nije pridruženo slovo nisu značajno različite.

Tablica 2. Osnovna kemijska svojstva tla po tretmanima na dubini uzorkovanja (30-60 cm)

tret.	dubina	pH		hum.	N	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	C	Mg
		H <sub>2</sub> O	mKCl								
T 0	30-60 cm	5,86	4,58	1,51	0,15	0,23b	1,22	3,15	14,8	0,88	91,1
T 1	30-60 cm	5,71	4,25	1,79	0,14	0,42a	1,34	2,1	14,0	1,04	64,4

Različita slova predstavljaju značajno različite vrijednosti prema Tukeyevom testu, p≤0,05. Vrijednosti kojima nije pridruženo slovo nisu značajno različite.

Relativno veća količina većine teških metala (Tablica 3) u oraničnom sloju (0-30 cm) utvrđena je na tretmanu s muljem u odnosu na kontrolni tretman (Zn-78,05 mg kg<sup>-1</sup>; Mn-2,111 mg kg<sup>-1</sup>; Cu-26,2 mg kg<sup>-1</sup>; Fe- 3,9901 mg kg<sup>-1</sup>; Pb-31,93 mg kg<sup>-1</sup>; Ni-45,63 mg kg<sup>-1</sup>) dok je signifikantno značajno veća količina utvrđena za kadmij (1,008 mg Cd/kg) i kobalt (21,1 mg Co/kg). U podoraničnom sloju (Tablica 4) kod teških metala nisu utvrđene statistički značajne razlike. Međutim, relativno veće količine većine teških metala su utvrđene na tretmanu s muljem u odnosu na kontrolni tretman (Zn-77,88 mg kg<sup>-1</sup>; Cu-27,1 mg kg<sup>-1</sup>; Fe-43,404 mg kg<sup>-1</sup>; Pb- 29,83mg kg<sup>-1</sup>; Ni-45,68 mg kg<sup>-1</sup>; Cd-0,648 mg kg<sup>-1</sup>). Dobiveni rezultati, tj. tendencije većine ispitivanih svojstava u skladu su s dosadašnjim istraživanjima različitih autora. Međutim, treba naglasiti da su količine primjenjenog mulja kod drugih autora višestruko veće, te su rezultati (naročito teških metala) i statistički signifikantniji, pa su tako primjenom velikih količina mulja (0, 40, 80 i 120 i 240 t/ha) u dvogodišnjem pokusu sa kukuruzom Epstein i sur. (1976) utvrdili snižavanje pH vrijednosti za manje od jedne jedinice (primijenjen je mulj s pH 6,5) na svim tretmanima u odnosu na kontrolu. Količina ukupnog dušika je s vremenom padala, ali je signifikantno najveća količina utvrđena na tretmanima sa 160 i 240 t/ha mulja. Količina pristupačnog fosfora rasla je s količinom primjenjenog mulja. Nadalje, primjena komunalnog mulja u količina (0, 20, 40,60, 80, i 100 t/ha) prema Jamil Khan i sur. (2006) neovisno o tretmanu, lagano je snizila pH tla (0,1 do 0,2 jedinice). Najveća količina dušika (1600 mg kg<sup>-1</sup>), fosfora (40 mg kg<sup>-1</sup>) i kalija (213 mg kg<sup>-1</sup>) u tlu utvrđena je na tretmanu sa najvišom dozom mulja (100 t/ha), isto tako i cinka (16 mg kg<sup>-1</sup>), bakra (15 mg kg<sup>-1</sup>), željeza (15,15 mg kg<sup>-1</sup>) i mangana (15,5 mg kg<sup>-1</sup>). Vaseghi i sur. (2005) u pokusu s 4 razine primjene komunalnog mulja (0, 50,100 i 200 t/ha) utvrđuju signifikantno povećanje ukupnog dušika i humusa, pristupačnog fosfora i

kalija, te značajno snižavnje pH tla. Prema Tsadilas i sur. (1995) primjenom komunalnog mulja dolazi do povećanja reakcije tla, organske tvari i pristupačnog fosfora. Od teških metala, samo za ukupni bakar i cink su utvđene značajno više vrijednosti. U pokusu s komunalnim muljem u količinama 0, 15, 30, 60, 120 150 t ha<sup>-1</sup> u uzgoju trava (*Zoysia japonica* i *Poa annua*) Wang i sur. (2008) utvrđuju značajno povećanje organske tvari u površinskom sloju (0-15 cm). Signifikantno značajno povećanje ukupnog dušika utvrđeno je samo na tretmanu s najvišom dozom mulja (150 t ha<sup>-1</sup>). Utvđene su više koncentracije cinka, bakra, olova i kadmija.

Tablica 3. Prosječni podaci po tretmanima mikroelemente i teške metale na dubini uzorkovanja(0-30 cm)

tretman	dubina	Zn	Mn	Cu	Fe	Pb	Ni	Cr	Cd	Co	Hg
T 0	0-30 cm	77,85	1.991	25,73	37957	24,18	43,53	65,7	0,563b	17,27b	<0,1
T 1	0-30 cm	78,05	2.111	26,2	39901	31,93	45,63	65,58	1,008a	21,1 a	<0,1

Različita slova predstavljaju značajno različite vrijednosti prema Tukeyevom testu, p≤0,05. Vrijednosti kojima nije pridruženo slovo nisu značajno različite.

Tablica 4. Prosječni podaci po tretmanima za mikroelemente i teške metale na dubini uzorkovanja(30-60 cm)

tretman	dubina	Zn	Mn	Cu	Fe	Pb	Ni	Cr	Cd	Co	Hg
T 0	30-60 cm	77,58	1.942	26,25	41.663	23,13	43,63	70,48	0,420	20,63	<0,1
T 1	30-60 cm	77,88	1.785	27,1	43.404	29,83	45,68	45,68	0,648	17,98	<0,1

Različita slova predstavljaju značajno različite vrijednosti prema Tukeyevom testu, p≤0,05. Vrijednosti kojima nije pridruženo slovo nisu značajno različite.

### Prinos suhe tvari

Primjena zakonski dozvoljenih 1,66 t ST mulja/ha nije značajno utjecala na prinos suhe tvari u jesenskom roku žetve (Tablica 5). U jesenskom roku žetve prosječni prinos ST iznosio je 39,01 t/ha, a prosječni sadržaj ST u biomasi 40,37%.

Tablica 5. Prinos suhe tvari (PST) i % suhe tvari miskantusa, Medvednica 2019

tretman	PST (t/ha)	ST (%)
T 0	38,26	40,31
T 1	39,75	40,42

Različita slova predstavljaju značajno različite vrijednosti prema Tukeyevom testu, p≤0,05. Vrijednosti kojima nije pridruženo slovo nisu značajno različite.

Prema Dubis i sur. (2020) na prinos suhe tvari miskantusa osim gnojidbe (160 kg N/ha) značajan utjecaj imaju agroekološki čimbenici, naročito oborine i temperatura. Tako su najviši prinosi suhe tvari miskantusa (22,5 t/ha) u petogodišnjem pokusu u uvjetima sjeverno istočne Poljske postignuti 2018. s prosječnim oborinama iznad prosječnim temperaturama. S druge strane, najniži prinosi suhe tvari utvđeni su 2016 i 2017. sa iznad prosječnim oborinama.



## Zaključak

Primjena mulja od Pravilnikom dopuštenim 1,66 t ha<sup>-1</sup> suhe tvari nije statistički značajno utjecala na većinu istraživanih kemijskih svojstava, osim u oraničnom (0-30 cm) sloju za magnezij, kadmij i kobalt, a u podoraničnom (30-60 cm) za nitrate. Isto tako, nije utvrđen statistički značajan utjecaj na prinos miskantusa.

## Napomena

Istraživanja neophodna za ovaj rad dio su projekta IP-2018-01-7472 kojeg financira HRZZ (Hrvatska zaklada za znanost) „Zbrinjavanje mulja kroz proizvodnju energetske kultura“.

## Literatura

- Alvarez E. A., Mochon M. C., Sanchez J. C. J. and Rodriguez M. T. (2002). Heavy Metal Extractable Forms in Sludge from Waste Treatment Plants. *Chemosphere*, Vol. 47, No. 7, 2002, pp. 765-775.
- Bilandžija N. (2015). Potencijal vrste *Miscanthus x giganteus* kao energetske kulture u različitim tehnološkim i agroekološkim uvjetima, doktorska disertacija, Agronomski fakultet, Zagreb
- Christian D.G., Riche A.B., Yates N.E. (2008). Growth, yield and mineral content of *Miscanthus x giganteus* grown as a biofuel for 14 successive harvests. *Industrial Crops and Products*. Volume 28, Issue 3, 320-327
- Dubis B., Jankowski K. J., Załuski D., & Sokólski M. (2020). The effect of sewage sludge fertilization on the biomass yield of giant miscanthus and the energy balance of the production process. *Energy*, 206, 118189.
- Egner H., Riehm H., Domingo W. R. (1960). Untersuchung über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung des Nährstoffzustandes der Boden. II, Chemische Extraktionsmethoden zur Phosphor und Kaliumbestimmung - K. Lantbr. Hogsk. Annir. W.R. 1960, 26: 199-215
- Epstein E., Taylor J. M., & Chancy R. L. (1976). Effects of Sewage Sludge and Sludge Compost Applied to Soil on some Soil Physical and Chemical Properties. *Journal of Environment Quality*, 5(4),422.
- European Commission (2001). Disposal and Recycling Routes of Sewage Sludge Part 3. Scientific and Technical Report, European Commission DG Environment
- HRN ISO 10390 :2005 Soil quality -- Determination of pH. Croatian Standards Institute, Zagreb
- HRN ISO 11261:2004 (2004) Soil quality - Determination of total nitrogen - Modified Kjeldahl method (HRN ISO 11261:1995). Kakvoća tla - Određivanje ukupnog dušika - Prilagođena Kjeldahlova metoda (HRN ISO 11261:1995)
- HRN ISO 11466:2004 Kakvoća tla – Ekstrakcija elemenata topljivih u zlatotopci. Soil quality - Extraction of trace elements soluble in aqua regia
- Iticescu C., Georgescu L. P., Murariu G., Circiumaru A., Timofti M. (2018). The characteristics of sewage sludge used on agricultural lands. *AIP Conference Proceedings* 2022
- Jamil Khan M., Qasim M.s, Umar M.(2006). Utilization of Sewage Sludge as Organic Fertiliser in Sustainable Agriculture. *Journal of Applied Sciences* 6(3)
- JDPZ (1966). Kemijske metode istraživanja zemljišta, Beograd Jones M.N., Bryan N.D. (1998). Colloidal properties of humic substances. *Adv. Colloid. Interface Sci.* 78: 1-48
- Pravilnik o gospodarenju muljem iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi. *Narodne novine* (38/2008).
- Pravilnik o načinima i uvjetima odlaganja otpada, kategorijama i uvjetima rada za odlagališta otpada. *Narodne novine* (9/2014).
- Page, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R. (1982) Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy. In Soil Science Society of America, Vol. 1159.
- Škorić, A. (1982). Priručnik za pedološka istraživanja. Fakultet poljoprivrednih znanosti, Zagreb.
- Tsadilas C. D., Matsi T., Barbayiannis N., & Dimoyiannis D. (1995). Influence of sewage sludge application on soil properties and on the distribution and availability of heavy metal fractions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 26(15-16), 2603–2619.

- Usman K., Khan S., Ghulam S., Khan M. U., Khan N., Khan M. A., Khalil S. K. (2012). Sewage Sludge: An Important Biological Resource for Sustainable Agriculture and Its Environmental Implications, *American Journal of Plant Sciences*, 3, 1708-1721
- Vaseghi S., Afyuni M., Shariatmadari H., Mobli M. (2005). Effect of Sewage Sludge on Some Macronutrients Concentration and Soil Chemical Properties. *Journal of Water and Wastewater; Ab va Fazilab (in persian)*, 16(1), pp. 15-22.
- Wang, X., Chen, T., Ge, Y., & Jia, Y. (2008). Studies on land application of sewage sludge and its limiting factors. *Journal of Hazardous Materials*, 160(2-3), 554–558.

## **The effect of sewage sludge application on soil chemical properties and yield of grass *Miscanthus x giganteus***

### **Abstract**

The aim of this research was to determine the effect of application of the 1.66 t ha<sup>-1</sup> dry matter of sewage sludge allowed by the Croatian ordinance on chemical properties of soil and yield of miscanthus. The application of sludge had a statistically significant effect on the higher amount of cadmium (1.008 mg kg<sup>-1</sup>) and cobalt (21.1 mg kg<sup>-1</sup>) in the arable (0-30 cm) layer and on a higher amount of nitrate in the subsoil layer (30-60 cm) (0.42 mg/100 g). However, on treatment with sludge there was a relative increase in humus, nitrate and ammonia in the arable, and humus and ammonia in the subsoil. Furthermore, relatively higher amounts of zinc, manganese, copper, iron, lead and nickel were found in the arable layer, and zinc, copper, iron, lead and cadmium in the subsoil layer. No statistically significant effect on miscanthus yield was found.

**Key words:** sewage sludge, *Miscanthus x giganteus*, macroelements, microelements, heavy metals

## Kakvoća površinskih voda u agroekološkom području Sisačko-moslavačke županije

Filip Kranjčec<sup>1</sup>, Nada Maurović<sup>1</sup>, Marina Diana Pišk<sup>1</sup>, Benjamin Atlija<sup>1</sup>, Damir Andabaka<sup>2</sup>, Ivan Šimunić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (fkranjcec@agr.hr)

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet, Škola narodnog zdravlja „Andrija Štampar“, Rockefellerova 4, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Cilj rada bio je odrediti kakvoću površinskih voda u agro-ekološkom području Sisačko-moslavačke županije na tri lokacije u svrhu zaštite od onečišćenja Parka prirode Lonjsko polje. Uzorkovanje površinskih voda provedeno je prema akreditiranoj metodi HRN ISO 5667-6:2016 u razdoblju od kraja 2017. do polovice 2018. godine u tri navrata. U uzorcima vode za određivanje ekološkog stanja voda analizirani su osnovni fizikalno-kemijski elementi i specifične onečišćujuće tvari, a za određivanje kemijskog stanja analizirane su prioritetne tvari. Dobiveni rezultati uspoređeni su s nacionalnim zakonodavstvom. Na temelju rezultata provedenih analiza za sve tri lokacije utvrđeno je umjereno ekološko stanje, a dobro stanje po specifičnim onečišćujućim tvarima i dobro kemijsko stanje voda.

**Glavne riječi:** površinske vode, kakvoća voda, Sisačko-moslavačka županija

### Uvod

Voda je veliko hrvatsko blago koje je kao resurs potrebno stalno motriti i štititi od obezvrijeđenja i onečišćenja u agro-ekosustavima. Poljoprivreda kao djelatnost troši veliku količinu vode te može biti potencijalni onečišćivač, odnosno zagađivač voda. Kvaliteta voda za pojedine namjene se određuje na temelju indikatora pojedinih tvari u vodi (Šimunić, 2016.). U različitim sustavima tlo-biljka pojedine tvari (onečišćivači) predstavljaju potencijalni rizik za okoliš na način da ih korijen biljke usvaja i daljnjim kruženjem tvari mogu predstavljati opasnost za akumuliranje u vitalnim organima ljudi i životinja ili mogu dospjeti do površinskih i podzemnih voda i izazvati kontaminaciju. Eutrofikacija (povećana koncentracija hranjivih tvari u vodi) je raširen problem okoliša, a nastaje prekomjernim obogaćivanjem voda hranjivim tvarima, uglavnom fosforom (Carpenter, 2005.). Ako se vode s povećanom koncentracijom nitrata koriste u humanoj potrošnji, može uzorkovati methemoglobinemiju kod dojenčadi i životinja (Pratt i Jury, 1984; Matson i sur., 1997.). Potencijalni rizik od raka od nitrata i nitrita u vodi i hrani izneseno je od strane Rademacher i sur. (1992.). Ispiranje nitrata iz tla ovisi o mnogo faktora, kao što su količina, učestalost i intezitet oborina, svojstva tla, vrsta poljoprivredne kulture i njezin razvoj, evaporacija, obrada tla i gnojidba dušikom (Vidaček i sur., 1999.; Nemeth, 2006.; Josipović i sur., 2006.; Nemčić i sur., 2007.; Šimunić i sur., 2011.). Metali kruže u prirodi biokemijskim i geokemijskim procesima, tako se naravno nalaze i u vodama u različitim kemijskim oblicima (Šimunić, 2013.). U zaštiti okoliša naročito velika pozornost posvećuje se nakupljanju metala za koje je utvrđena toksičnost, ali ne i biogenost (npr. kadmij, olovo, živa). Poljoprivreda kao djelatnost značajno pridonosi unosu metala, uključujući i teške metale, u okoliš (primjena fosfatnih mineralnih gnojiva i pesticida, odlaganje otpadnog mulja, navodnjavanje neodgovarajućom kakvoćom voda) (Šimunić, 2013., Štrkalj, 2014.). Cilj rada

je odrediti utjecaj poljoprivrede na kakvoću površinskih voda u agro-ekološkom području Sisačko-moslavačke županije.

### **Materijal i metode**

Istraživano agro-ekološko područje smješteno je u srednjem dijelu Posavine, a ukupna površina područja je oko 4.000 ha (Šimunić i sur., 2017.). Uzorkovanje vode provedeno je na tri lokacije: glavni melioracijski kanal, rijeka Lonja i rijeka Sava. Lokacija glavnog melioracijskog kanala odabrana je kao prva točka uzorkovanja, jer sakuplja vodu šireg melioriranog područja Jelenščak. Suvišne vode preko crpne stanice Okoli prebacuju se u kanal Stružec i uljevaju u rijeku Lonju (druga točka uzorkovanja), koja se ulijeva u rijeku Savu (treća točka uzorkovanja, kod mjesta Gušće). U razdoblju od kraja 2017. do polovice 2018. godine uzorkovanje vode na lokacijama u tri navrata provedeno je od strane osoblja Analitičkog laboratorija Zavoda za melioracije Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (MELILAB), akreditiran prema normi HRN EN ISO/IEC 17025:2007 za uzorkovanje površinskih voda rijeka i potoka prema HRN EN ISO 5667-6:2016. U MELILAB-u u uzorcima vode određena je zakiseljenost i hranjive tvari, dok su uvjeti režima kisika i koncentracije metala određeni u Laboratoriju za ispitivanje voda pri Zavodu za zdravstvenu ekologiju i medicinu rada Škole narodnog zdravlja „Andrija Štampar“, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Osnovni fizikalno-kemijski elementi određeni su prema slijedećim normiranim propisima: određivanje pH vrijednosti: HRN ISO 10523:2008, EN ISO 10523:2012; određivanje koncentracije nitrata ( $\text{NO}_3^-$ ): HRN EN ISO 13395:1996; određivanje koncentracije amonijaka ( $\text{NH}_4^+$ ): Metoda kontinuirane protočne analize (ISO 11732:2005; EN ISO 11732:2005); određivanje koncentracije ortofosfata ( $\text{PO}_4^{3-}$ ): Metoda kontinuirane protočne analize (HRN EN ISO 15681-2:2018; EN ISO 1581-2:2018); određivanje biološke potrošnje kisika ( $\text{BPK}_5$ ): HRN EN 1899-1:2004; određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK): HRN ISO 6060:1998. Specifične onečišujuće tvari određene su prema: određivanje sadržaja cinka: HRN EN ISO 15586:2008. Kemijsko stanje voda određeno je prema: određivanje sadržaja kadmija i olova: HRN EN ISO 15586:2008. Određivanje željeza i mangana određeno je prema: HRN EN ISO 15586:2008. Rezultati ispitivanja voda uspoređene su s vrijednostima Uredbe o standardu kakvoće voda (NN 96/19), a rezultati koncentracija željeza i mangana uspoređivani su s vrijednostima u Pravilniku NN, 125/17. Ocjena stanja tijela površinske vode određuje se na temelju lošije vrijednosti. Prema NN96/19 glavnom melioracijskom kanalu pripada oznaka HR-R\_4, rijeci Lonji pripada oznaka HR-R\_2B, dok rijeci Savi pripada oznaka HR-R\_5C.

### **Rezultati i rasprava**

Ocjena ekološkog i kemijskog stanja voda na tri lokacije Sisačko-moslavačke županije prikazani su u tablicama 1, 2 i 3. Prosječne vrijednosti koncentracija željeza i mangana na sve tri lokacije prikazane su u tablici 4. Voda na lokaciji glavnog melioracijskog kanala je vrlo dobrog ekološkog stanja po 1 pokazatelju, dobrog ekološkog stanja po 3 pokazatelja, a umjerenog ekološkog stanja po 2 pokazatelja. Zaključno je voda umjerenog ekološkog stanja. Voda je dobrog stanja po specifičnim onečišujućim tvarima i dobrog kemijskog stanja (Tablica 1).

Tablica 1. Ocjena ekološkog i kemijskog stanja za lokaciju glavnog melioracijskog kanala

Osnovni fizikalno-kemijski pokazatelji						
KES*	zakiseljenost	uvjeti režima kisika		hranjive tvari		
	pH	BPK <sub>5</sub>	KPK	amonij	nitriti	ortofosfati
		mg O <sub>2</sub> /l			mg/l	
Vrlo dobro	7,50					
Dobro		2,03			1,13	0,071
Umjerenost			6,49	1,93		
Specifične onečišćujuće tvari			Standardi kakvoće vodnog okoliša			
KES*	cink	KKS**		kadmij	olovo	
	μg/l				μg/l	
Dobro	<5,0	Dobro		<0,1	<1,0	
Loše		Loše				

\*KES - kategorija ekološkog stanja; \*\*KKS - kategorija kemijskog stanja

Voda na lokaciji rijeka Lonja je vrlo dobrog ekološkog stanja po 1 pokazatelju, dobrog ekološkog stanja po 1 pokazatelju, a umjerenog ekološkog stanja po 4 pokazatelja. Zaključno je voda umjerenog ekološkog stanja. Voda je dobrog stanja po specifičnim onečišćujućim tvarima i dobrog kemijskog stanja (Tablica 2).

Tablica 2. Ocjena ekološkog i kemijskog stanja za lokaciju rijeka Lonja

Osnovni fizikalno-kemijski pokazatelji						
KES*	zakiseljenost	uvjeti režima kisika		hranjive tvari		
	pH	BPK <sub>5</sub>	KPK	amonij	nitriti	ortofosfati
		mg O <sub>2</sub> /l			mg/l	
Vrlo dobro	7,8					
Dobro		3,13				
Umjerenost			7,83	1,5	1,82	0,172
Specifične onečišćujuće tvari			Standardi kakvoće vodnog okoliša			
KES*	cink	KKS**		kadmij	olovo	
	μg/l				μg/l	
Dobro	<5,0	Dobro		<0,1	<1,0	
Loše		Loše				

Voda na lokaciji rijeka Sava je vrlo dobrog ekološkog stanja po 3 pokazatelja, dobrog ekološkog stanja po 2 pokazatelja, a umjerenog ekološkog stanja po 1 pokazatelju. Zaključno je voda umjerenog ekološkog stanja. Voda je dobrog stanja po specifičnim onečišćujućim tvarima i dobrog kemijskog stanja (Tablica 3).

Tablica 3. Ocjena ekološkog i kemijskog stanja za lokaciju rijeka Sava

Osnovni fizikalno-kemijski pokazatelji						
KES*	zakiseljenost	uvjeti režima kisika		hranjive tvari		
	pH	BPK <sub>5</sub>	KPK	amonij	nitriti	ortofosfati
		mg O <sub>2</sub> /l			mg/l	
Vrlo dobro	8,0	1,46	1,42			
Dobro					1,34	0,07
Umjerenost				0,57		

Specifične onečišćujuće tvari		Standardi kakvoće vodnog okoliša		
KES*	cink	KKS**	kadmij	olovo
	µg/l		µg/l	
Dobro	<5,0	Dobro	<0,1	<1,0
Loše		Loše		

Sadržaj željeza na lokacijama glavnog melioracijskog kanala i rijeka Lonja višestruko prelazi maksimalno dopuštene koncentracije (MDK) navedene u Pravilniku, dok u rijeci Savi sadržaj željeza je ispod MDK. Sadržaj mangana nije prelazio MDK navedene u Pravilniku (Tablica 4).

Tablica 4. Prosječne vrijednosti željeza i mangana na sve tri lokacije

Lokacije	Fe	MDK prema NN 125/17	Mn	MDK prema NN 125/17
	µg/l			
Glavni melioracijski kanal	653	200	26	50
Rijeka Lonja	469		5	
Rijeka Sava	<10,0		<1,0	

## Zaključak

Na temelju analize uzoraka površinskih voda na tri lokacije agro-ekološkog područja Sisačko-moslavačke županije može se zaključiti da prema rezultatima zakiseljenosti sve tri lokacije spadaju u kategoriju vrlo dobrog ekološkog stanja. Prema rezultatima režima kisika lokacije glavnog melioracijskog kanala i rijeka Lonja spadaju u kategoriju umjerenog stanja, dok lokacija rijeka Sava pada u kategoriju vrlo dobrog stanja. Prema rezultatima hranjivih tvari sve tri lokacije spadaju u kategoriju umjerenog stanja, dok prema rezultatima specifičnih onečišćujućih tvari sve tri lokacije spadaju u kategoriju dobrog stanja. Prema rezultatima standarda kakvoća vodnog okoliša sve tri lokacije spadaju u kategoriju dobrog stanja. Sve tri lokacije spadaju u kategoriju umjerenog ekološkog stanja, a voda je dobrog stanja po specifičnim onečišćujućim tvarima i kemijskom stanju. Rezultati željeza u vodama na lokacijama glavnog melioracijskog kanala i rijeke Lonje su iznad MDK te ukazuju na njegovo geogeno porijeklo i povećano ispiranje sa okolnog područja. Na lokaciji glavnog melioracijskog kanala voda je lošije kakvoće što se može pripisati utjecaju tehnologije uzgoja poljoprivrednih kultura na hidromelioriranim površinama s kojih suvišne vode tla otječu sustavom kombinirane odvodnje do glavnog melioracijskog kanala.

## Literatura

- Carpenter S. (2005.). Eutrophication of aquatic ecosystems: Bistability and soil phosphorus. PNAS. Vol. (102): 10002-10005
- HRN EN 1899-1:2004 - Kakvoća vode - Određivanje biokemijske potrošnje kisika nakon n dana (BPKn) - 1. dio: Metoda razrjeđivanja i nacjepljivanja uz dodatak alitiouree
- HRN EN ISO 11732:2008 - Kakvoća vode - Određivanje amonijevog dušika - Metoda protočne analize uz spektrometrijsku detekciju
- HRN EN ISO 13395:1998 - Kakvoća vode - Određivanje nitritnog i nitratnog dušika i njihove sume s protočnom analizom i spektrometrijskom metodom
- HRN EN ISO 15586:2008 - Kakvoća vode - Određivanje elemenata u tragovima atomskom apsorpcijskom spektrometrijom s grafitnom peći
- HRN EN ISO 15681-2:2018 - Kvaliteta vode - Određivanje ortofosfata i ukupnog fosfora protočnom analizom - 2. dio

- HRN EN ISO 5667-6:2016 - Kvaliteta vode - Uzorkovanje - 6. dio: Upute za uzorkovanje vode rijeka i potoka  
 HRN ISO 10523:2008; EN ISO 10523:2012 - Kvaliteta vode - Određivanje pH vrijednosti  
 HRN ISO EN 6060:1998 - Kakvoća vode - Određivanje kemijske potrošnje kisika  
 Josipović M., Kovačević V., Šoštarić J., Plavšić H., Liović J. (2006). Influences of irrigation and fertilization on soybean properties and nitrogen leaching. *Cereal Research Communications*. Vol. (34): 513-516.
- Matson P.A., Parton W. J., Power A. G., Swift M. J. (1997). Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*. Vol. (277): 504-509.
- Mayer D. (2004.). Voda, Od nastanka do upotrebe. Prosvjeta, Zagreb
- Narodne novine, Uredba o standardu kakvoće voda – NN 96/19
- Narodne novine, Zakon o vodama - NN 66/19
- Nemčić J. J., Mesić M., Bašić F., Kisić I., Zgorelec Z. (2007). Nitrate concentration in drinking water from wells at three different locations in Northwest Croatia. *Cereal Research Communication*. Vol. (35): 533-536.
- Nemeth T. (2006). Nitrogen in the soil-plant system nitrogen balances. *Cereal Research Communications*. Vol. (34): 61-64.
- Pratt P., Jury W. A. (1984). Pollutin of the unsaturated zone with nitrate. *Ecological Studies*. Vol. (47): 52-67.
- Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe - NN 125/17
- Rademacher J. J., Young T.B., Kanarek M. S. (1992). Gastric cancer mortality and nitrate levels in Wisconsin drinking water. *Archives of Enviromental Helth*. Vol. (47): 292-294.
- Siročić Ptiček A., Kovač S., Hajdinjak A. (2018.). Korelacijska analiza pokazatelja kakvoće vode jezera Motičnjak. *Hrvatske vode*. Vol. (26): 203-210
- Šimunić I. (2013). Uređenje voda. Hrvatska sveučilišna naklada. Zagreb.
- Šimunić I. (2016). Regulation and protection of water. Croatian University Press. Zagreb.
- Šimunić I., Mesić M., Sraka M., Likso T., Čoga L. (2011). Influence of drainage on nitrate leaching and maize yield. *Cereal Research Communications*. Vol. (39): 273-282.
- Šimunić I., Orlović-Leko P., Marić Senta A., Ciglencečki I., Minkina T., Filipović V. (2017). Quality of surface water in the agricultural district Lonja field (Croatia). *Agriculture and Forestry*. Vol. (63): 5-14.
- Štrkalj A. (2014.). Onečišćenje i zaštita voda, Sveučilište u Zagrebu. Metalurški fakultet, Sisak
- Tušar B. (2009.). Pročišćavanje otpadnih voda. Kigen d.o.o. Zagreb.
- Vidaček Z., Sraka M., Čoga L., Mihalić A. (1999). Nitrates, heavy metals and herbicide sin soil and water of Karasica-Vucica catchment area. *Agriculture Conspectus Scientificus*. Vol. (64): 143-150.

## Quality of surface water in agro-ecological areas of Sisak-Moslavina County

### Abstract

The aim of this study was to determine the surface water quality in the agro-ecological area of Sisak-Moslavina County on three loactions, in order to protect nature park Lonjsko Polje from pollution. Sampling of surface water was performed according to the accredited method HRN ISO 5667-6: 2016 from the end of 2017 to the middle of 2018 on three occasions. Basic physicochemical elements and specific pollutants were analyzed in water samples to determine the ecological status of water, priority substances were analyzed to determine the chemical status and obtained results were compared with national legislation. Based on the results analysis, all three locations have moderate ecological status and good status for specific pollutants and chemical status.

**Key words:** surface water, water quality, Sisak-Moslavina County

## Mogućnosti korištenja satelitskih snimaka Sentinel-2 za procjenu produktivnosti pašnjaka podnožja Dinare

Hrvoje Kutnjak, Josip Leto

*Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska  
(hkutnjak@agr.hr)*

### Sažetak

Cilj ovoga rada je prikazati mogućnosti procjene relativne produktivnosti suhih kamenjarskih travnjaka područja podnožja Dinarskih planina korištenjem satelitskih snimaka Sentinel-2. Tijekom 2019. godine prikupljeni su uzorci biljne biomase travnjaka na projektnom području projekta „Dinara back to LIFE“. Obradom satelitske snimke Sentinel-2 izdvojene su travnjačke površine i izračunat normalizirani razlikovni vegetacijski indeks (NDVI). Dobivena je korelacija NDVI-a i prinosa travnjaka te opisana linearnim modelom  $y=378 \times X - 89,99$  srednje jakosti ( $R^2=0,352$ ) koji je moguće koristiti za kartirajne produktivnog potencijala pašnjaka.

**Ključne riječi:** suhi travnjaci, Dinara, Sentinel 2, NDVI, produktivnost pašnjaka

### Uvod

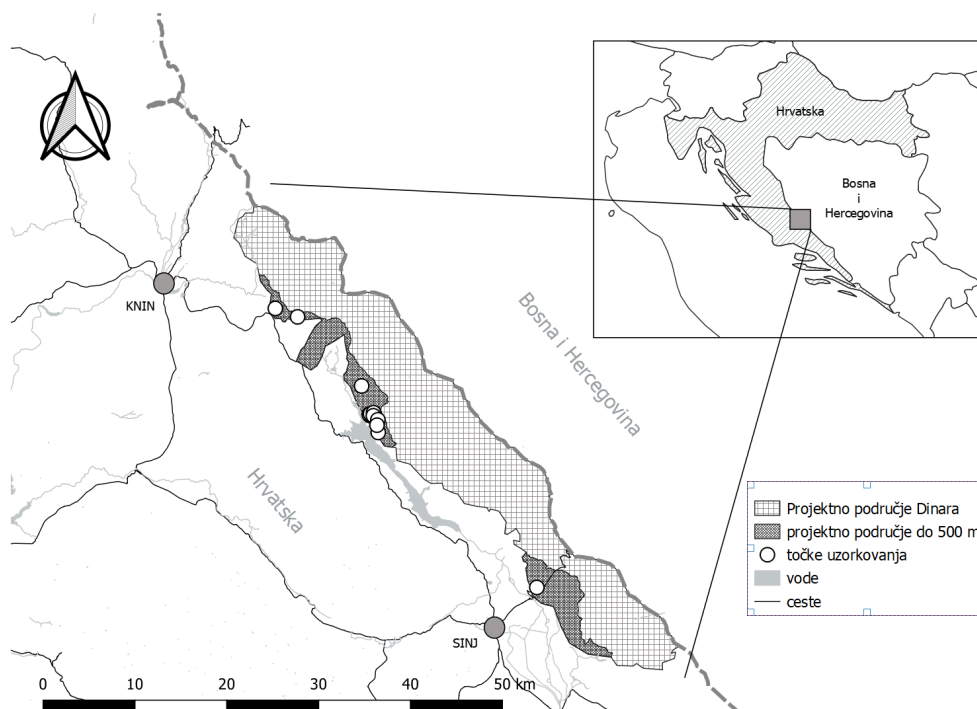
Planinski kompleks Dinara, dio je Dinarida smješten duž granice Republike Hrvatske i Bosne i Hercegovine. Dinarske planine su od davnina bile transhumantno stočarski kraj u kojem su koji je unazad nekoliko desetljeća gotovo u potpunosti depopuliran, a pašnjaci napušteni što je dovelo do njihove sukcesije, smanjivanja prirodnih staništa i posljedično ugrožavanja bioraznolikosti i staništa koji su ovisili o tamošnjema stočarstvu (Marković, 2003.). Kako bi se ponovo pokrenule ljudske aktivnosti na tom prostoru na održiv način bez ugroze za biljni i životinjski svijet, potrebne su informacije i znanja koja će omogućiti optimalno korištenje zemljišnog resursa. S tim ciljem, a u sklopu EU projekta „Dinara back to LIFE“ provode se istraživanja koja koriste satelitsku tehnologiju za kvantificiranje pašnjačkog resursa na tom prostoru. U sklopu programa Copernicus, Europska komisija u suradnji s Europskom svemirskom agencijom osigurala je servis za motrenje Zemlje. Posebnu primjenu za motrenje promjena vegetacije našli su sateliti Sentinel-2A i 2B sa svojim multispektralnim senzorima koji osim visoke prostorne rezolucije od 10 m osiguravaju i visoku temporalnu rezoluciju snimaka svakih 5 dana. Cilj ovoga rada je prikazati mogućnosti procjene relativne produktivnosti travnjaka korištenjem satelitskih snimaka Sentinel-2. Pretpostavka je da je ovakvim snimkama moguće izdvojiti travnjačke površine suhih polja u podnožju Dinare i na temelju normaliziranog razlikovnog vegetacijskog indeksa (NDVI) vrednovati relativnu produktivnost travnjaka (Rouse i sur., 1971., Lugassi i sur. 2019.). Hipoteza je da postoji korelacija između travnjačke nadzemne biomase s reprezentativnih ploha površine  $1\text{m}^2$  i vrijednosti NDVI-a što bi bio preduvjet za obračunavanje produktivnosti travnjaka na širem području.

### Materijal i metode

Područje istraživanja dio je projektnog područja Dinara back to LIFE i obuhvaća podnožje hrvatske, jugozapadne strane planina Dinare, Troglava i Kamešnice do 500 m nadmorske visine i ukupne površine  $79.91\text{ km}^2$ . Područje je prekriveno travnjacima koji spadaju u istočnojadranske kamenjarske pašnjake submediteranske i epimediteranske zone



(*Chrysopogono grylli-Koelerion splendidis* Horvatić 1973. i *Saturejion subspicatae* Horvatić 1973.) sa sastojinama oštrogličaste borovice (*Juniperus oxycedrus*) iprimorskim, termofilnim šumama i šikarama hrasta medunca i bijelog graba (*Quercus pubescens* *Carpinus orientalis*) na vapnencima i dolomitima malom sposobnosti zadržavanja oborinskih voda. Zbog propusnosti podloge unatoč relativno dovoljnoj količini padalina česte su suše.



Slika 1. Projektno područje obuhvaća (ljepša karta, označiti projektno područje i područje istraživanja, ubaciti kartu hrvatske

### Obrada satelitskih snimaka

Za određivanje površina travnjaka na projektom području korištena je četiri kanalna (RGB+NIR) satelitska snimka Sentinel 2 rezolucije 10 m od 6. kolovoza 2019. godine te je nenadgledano klasificirana ISO klasifikacijom u 15 klasa s minimalnom veličinom klase 30 i intervalom uzorkovanja 3. Dobivene klase su interpretirane preko pozadinske satelitske snimke vrlo visoke rezolucije (BingMaps Aerial) u odgovarajuće tipove zemljišnog pokriva. Tri klase travnjaka su objedinjene u jedinstvenu masku koja predstavlja travnjake i po kojoj je izrezana snimka iz 26. lipnja 2020 godine kada je vegetacija u svom sezonalnom vrhucu te je iz nje izračunat normalizirani razlikovni vegetacijski indeks (NDVI).

### Prikupljanje nadzemne biomase

Tijekom 2020. godine u lipnju, srpnju i listopadu odrađeno je 3 terena na širem području Dinare gdje su na travnjacima sa 12 lokacija prikupljeni uzorci nadzemnih dijelova biljaka s površina 0,11 – 1,11 m<sup>2</sup>, osušeni u sušioniku 48h na 60°C, izvagani i izraženi kao prinos suhe tvari po jedinici površine. Na heterogenim je površinama za bolju aproksimaciju produktivnosti po jedinici površine korišten fotoaparati na način su podaci prikupljene biljne mase kombinirane sa snimkama koje su vizualno interpretirane i vektorizane u ArcMapu te je izračunat udio kamena na travnjaku koji je bio korišten za ponderiranje odnosno korekciju prinosa na obračunsku površinu od 1m<sup>2</sup>.

## Rezultati i rasprava

Izmjereni prosječni prinos prikupljenih uzoraka u lipnju, srpnju i listopadu prema tipu travnjaka na suhopoljima je bio između 60,3 i 315,0 g m<sup>-2</sup>, odnosno ponderirano udjelom kamena, na vrijednosti između 25,1 i 195,0 g m<sup>-2</sup> (Tablica 1.)

Tablica 1. Ponderirani prinosi travnjaka i NDVI vrijednosti

točka	Koordinate WGS84		mjesec	prinos	pond. prinos	NDVI
	širina	dužina		[g ST m <sup>-2</sup> ]		
1	43.908895	16.475462	VII	81.9	81.9	0.524
2	43.908954	16.475328	VII	69.3	69.3	0.462
3	43.909748	16.479645	VII	60.3	40.0	0.528
4	43.937833	16.464002	VII	315.0	195.0	0.670
5	43.909966	16.474275	VII	90.9	65.5	0.418
6	43.910514	16.476156	VII	40.1	40.1	0.382
7	43.911644	16.480183	VII	251.6	171.8	0.417
8	43.908642	16.479934	X	250.2	171.5	0.565
9	43.904668	16.486054	X	57.8	25.1	0.383
10	44.013752	16.346839	X	85.1	83.0	0.555
11	44.005498	16.377053	X	93.2	78.6	0.407
12	43.740075	16.700907	VI	104.1	80.6	0.462

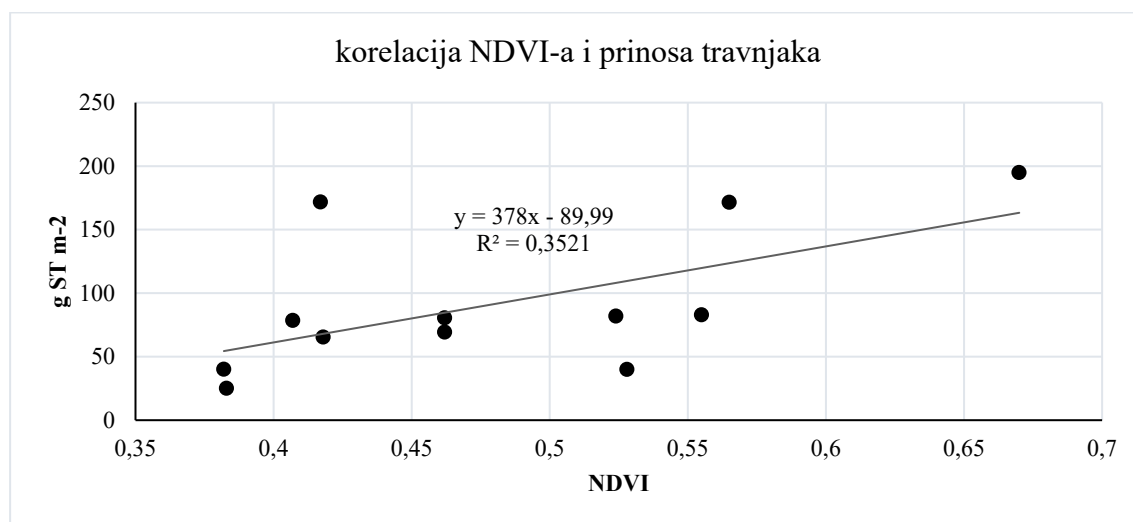
Nenadgledanom ISO klasifikacijom satelitske snimke Sentinel-2 dobiven je raster u 11 klasa. Interpretacijom klasa preko pozadinske satelitske snimke vrlo visoke rezolucije (BingMaps Aerial) determinirane su tri klase koje su pokrivala područja pod šumom i gustom grmolikom vegetacijom (6, 9, 10), jedna je jasno pokrivala golo, neobraslo tlo i kamen (8), tri klase su predstavljale travnjake (4, 5, 7). Dvije klase (1, 11) su predstavljale mozaik travnjaka sa drvećem i grmljem, odnosno travnjake u fazi zarastanja sa značajnijim udjelom grmolike vegetacije i posljednje dvije klase (2, 3) su se odnosile na rubne i ekstremne piksele koji sabrani su u klasu ostalo. Travnjaci su zauzimali 2946,9 ha odnosno 36,9 % ukupne površine. (Tablica 2.)

Tablica 2. Površine i udjeli zemljišnog pokrova dobiveni klasifikacijom satelitske snimke

pokrov	Površina [ha]	Udio [%]
šuma i grmlje	3415.6	42.7
golo	119.4	1.5
travnjaci	2946.9	36.9
mozaik travnjaka i drveća/grmlja	1474.0	18.4
ostalo	34.8	0.4
TOTAL	7990.8	100.0

Pozitivna korelacija produktivnosti travnjaka s NDVI vrijednostima sa piksela na kojima su prikupljeni uzorci po Chaddockovoj ljestvici pokazala je vezu srednje jakosti ( $R^2=0,352$ ) (Chaddock, 1925.). Dobiveni model korelacije ( $y= 378 \times X - 89,99$ ) korišten je za izračun ukupne produktivnosti kartiranih travnjaka na dijelu projektnog područja do 500 m nadmorske visine i utvrđeno je da je na površini od 2946,9 ha prosječni NDVI travnjaka iznosio 0,503. Teoretski, uvrštavanjem u gorenavedeni linearni model izračunata je prosječna produktivnost od 1,00144 t/ha što bi teoretski bilo dovoljno za ispašu 0,219 UG ha god<sup>-1</sup>

odnosno na ukupnu površinu predstavlja godišnji pašni potencijal za 646,8 UG (UG-uvjetno grlo)(Holeček i sur., 1989.), ali kod ovakvih izračuna treba biti oprezan jer i dalje ostaje problem kvalitetne delinacije travnjaka putem satelitskih snimaka čija je prostorna rezolucija 10 m pa je detekcija travnjaka u ovom sučaju bila ograničena samo na one travnjake koji nisu u nekom obliku mozaika koji uključuju stijene i drveće s grmljem. Također, za bolji model koji bi bio prostorno koreliran potrebno bi bilo sistematičnije prikupljati uzorke nadzemne biljne biomase te potencijalno uključiti druge tehnologije za određivanje udjela kamena odnosno drvenaste vegetacije odnosno heterogenosti pokrova kao što su bespilotne letjelice.



Grafikon 1. Korelacija normaliziranog razlikovnog vegetacijskog indeksa (NDVI) i prinosa travnjaka ponderiranog na 1 m<sup>2</sup>.

## Zaključak

Dobivena je korelacija prinos travnjaka i NDVI-a te opisana linearnim modelom  $y=378 \times X - 89,99$  srednje jakosti ( $R^2=0,352$ ) koji je moguće koristiti za kartirajne produktivnog potencijala pašnjaka.

## Napomena

Ovaj rad je napravljen sredstvima EU u sklopu projekta Dinara Back to LIFE (LIFE18 NAT/HR/00084) i infrastrukturom pokušališta Centar za travnjaštvo Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta.

## Literatura

- Chaddock, R. E. (1925). Principles and Methods of Statistics“(1st Edition), Houghton Mifflin Company, The Riverside Press, Cambridge. 248; 303.
- Holeček J. L., Pieper R. D., Herbel C. H. (1989). Range management principles and practices, Prentice Hall, N. J., pp 456.
- Lugassi R., Zaady E., Goldshleger N., Shoshany M., Chudnovsky A. (2019). Spatial and Temporal Monitoring of Pasture Ecological Quality: Sentinel-2-Based Estimation of Crude Protein and Neutral Detergent Fiber Contents. *Remote Sensing* 11(7): 799. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-4292/11/7/799/htm>
- Marković M. (2003). Stočarska kretanja na Dinarskim planinama. Naklada Jesenski i Turk. Zagreb. 202.
- Rouse J. W., Haas R. H., Schell J. A., Deering D. W. (1973). Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. In: Third ERTS Symposium. (1973). NASA SP-351 I. p. 309-317.

## **Possibilities of using Sentinel-2 satellite imagery to estimate the Dinara foothills pasture productivity**

### **Abstract**

The aim of this paper is to present the possibilities of estimating the relative productivity of dry rocky grasslands in the foothills of the Dinaric Mountains using Sentinel-2 satellite images. During 2019, samples of plant biomass were collected in the project area of the project "Dinara back to LIFE". By processing the Sentinel-2 satellite image, grassland areas were isolated and the normalized differential vegetation index (NDVI) was calculated. The correlation of grassland yield and NDVI was obtained and described by a linear model  $y = 378 \times X - 89.99$  of medium strength ( $R^2 = 0.352$ ) which can be used to map the productive potential of pastures.

**Key words:** dry grasslands, Dinara, Sentinel 2, NDVI, pasture productivity

## The evaluation of effective rainfall under different climatic conditions

Monika Marković<sup>1</sup>, Atilgan Atilgan<sup>2</sup>, Sabrija Čadro<sup>3</sup>, Marko Oršolić<sup>1</sup>, Vladimir Zebec<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Agrobiotechnical sciences, University of J.J. Strossmayer in Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek, Croatia (monika.markovic@fazos.hr)*

<sup>2</sup>*Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Agricultural Structures and Irrigation, Çünür/Isparta, Turkey*

<sup>3</sup>*Faculty of Agriculture and Food Sciences, University of Sarajevo, Zmaja od Bosne 8, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina*

### Abstract

Rainfall is the main source of water for crops, yet not all of the rain water is actually available to the plants due to the losses that occur, i.e. evaporation, surface runoff, deep percolation, etc. Of particular importance is to choose the right method for estimation of Effective Rainfall (Re) especially during the climate variability, frequent changes in dry and wet years as well as extreme weather events. This study is conducted to evaluate several methods for estimation of Re in different climatic years (2010-2012) and to choose the proper method for each growing season depending on the amount of rainfall. According to the study results, the FAO method suits better for wet growing seasons ( $r = 0.65$ ,  $<0.05$ ), or humid regions while USDA method for dry seasons, or arid regions ( $r = 0.59$ ; 2011 and  $r = 0.9$ ; 2012).

**Key words:** effective rainfall, estimation methods, irrigation water requirements, maize

### Introduction

Rainfall is the main source of water for crop growth, especially in humid and sub-humid climates. Yet, not all rainfall can be used by the crops due to the losses that occur when the rain water falls on the soil surface. This means that not all rainfall infiltrates into the soil, e.g. one part of the rain water evaporates from the soil surface, another percolates in the deeper soil layer, or becomes surface runoff, and because of that amount of rainfall is not effective. Therefore, Effective Rainfall (Re) is the amount of rain water that is actually stored in the root zone and available to the crops. This is a very important component that must be taken into consideration for irrigation scheduling. That is why Bos et al. (2009) have stated that the Re is that part of the total precipitation that replaces, or potentially reduces, a corresponding net quantity of Required Irrigation Water (RIW). The factors which influence which part is effective and which part is not effective includes the climate, the soil texture, the soil structure, and the depth of the root zone (Brouwer and Heibloem, 1986). Furthermore, Re is crop characteristics such as crop root zone depth and canopy cover dependent (Ali and Mubarark, 2017). As for the amount of rainfall, during the summer months when the air temperatures and evaporation are high, the amount of rainfall below 5 mm would not be considered as effective (Dastane, 1978). On the other hand, during heavy rainfall events, a significant amount of rain water will be lost by deep percolation and surface runoff. All of these parameters must be taken into consideration when effective rainfall is to be measured. Measuring of mention parameters is time-consuming and expensive, which is the reason for the implementation of different calculation methods for Re estimation. Therefore the main goal of this study was to analyze the characteristics of growing season precipitation for 2010-2012 period in the Osijek region, to evaluate which calculation method is most suited for the specific growing season in terms of the amount of rainfall, and to evaluate the Water Use Efficiency (WUE) for each tested method.

## Material and methods

In this study, the Re analysis is given for maize (*Zea mays* L.) crop grown in Osijek-Baranja County, during 2010-2012 period (OBŽ 2011, OBŽ 2012, OBŽ 2013). The study period is chosen because of the variability in weather conditions, i.e. the growing season 2010 was extremely wet, while the growing season 2012 was extremely dry. Following weather data were obtained from the Croatian Meteorological and Hydrological Station: monthly rainfall (mm), minimum and maximum air temperatures (°C), wind speed (km/d), sun hours (h), and relative humidity (%). Weather data were used for ETo/ETc calculation with the help of CROPWAT 8.0 computer model (Smith, 1992). In the model, the ETo/ETc calculation is based upon Penman-Montheit equation (Allen et al., 1998) which is the established method for determining the evapotranspiration (ET) of major herbaceous crops with sufficient precision for management purposes (Feres and Soriano, 2007). The Irrigation Water Requirements (IWR) is expressed as the difference between the ETc and Re that is estimated according to different methods. A simple water balance (SWB) is a difference between the ETc and total rainfall. Effective rainfall (Re) was estimated by use of the following methods: (i) SWB; (ii) method that is used as fixed percentage (80%); (iii) FAO/AGWL method (Wane and Nagdeve, 2014);  $Re = 0.8 \times R \times 24/3$ , if  $R > 70/3$  mm/month,  $Re = 0.6 \times R \times 10/3$ , if  $R < 70/3$  mm/month where R stands for rainfall; (iv) empirical formula according to Wane and Nagdeve (2014);  $Pe = 0.5 \times R - 5$ , if  $R < 50$  mm and  $Re = 0.7 \times R + 20$ , if  $R > 50$  mm, where the 0.5 and 0.7 are correction factors, and (v) USDA soil conservation service method (Wane and Nagdeve, 2014);  $Re = (R \times (125 - 0.2 \times 3 \times R))/125$  if  $R < 250/3$  mm, and  $Re = 125/3 + 0.1 \times R$ , if  $R > 250/3$  mm, where R stands for rainfall. USDA method estimates effective rainfall by processing long term climatic and soil moisture data. In this method, neither the soil intake rate nor rainfall intensities are considered (Dastane, 1978). Meaning, the method averages soil type, climatic conditions, and soil-water storage. As for yield analysis, the Water Use Efficiency (WUE) was determined according to Oweis (1997):  $WUE = Y/R$ ; where Y stands for yield (kg/ha) and R for rainfall (mm). Pearson correlation analysis (0.05) was done for testing the strength of association between the ETc (crop water demands), ETo (reference evapotranspiration) and Re (effective rainfall) for all tested methods and growing seasons.

## Results and discussion

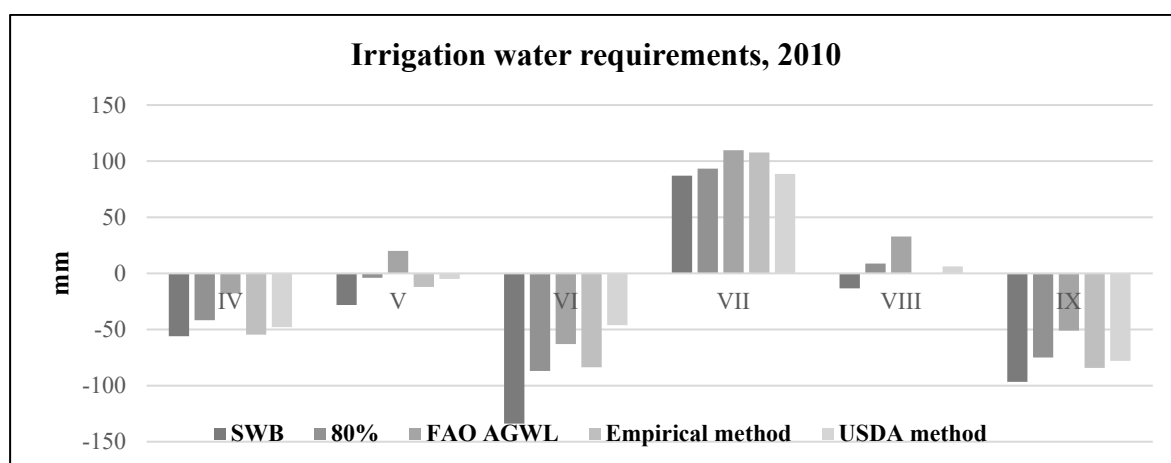
In average during the growing season 2010, the IWR ranged from -241 mm (SWB) to 30.8 mm (FAO AGWL). As for WUE, the highest WUE was according to the FAO AGWL formula ( $17.3 \text{ kg ha mm}^{-1}$ ), and the lowest efficiency ( $10.3 \text{ kg ha mm}^{-1}$ ) according to the SWB method (Table 1).

Table 1. Irrigation water requirements (IWR) according to Re calculation methods and Water Use Efficiency (WUE) of maize crop in different climate conditions

Year	2010		2011		2012	
	IWR mm	WUE ( $\text{kg ha mm}^{-1}$ )	IWR mm	WUE ( $\text{kg ha mm}^{-1}$ )	IWR mm	WUE ( $\text{kg ha mm}^{-1}$ )
SWB	-241	10.3	215.5	23.3	193.1	14.8
80%	-105.5	12.9	264.5	29.1	251.4	18.5
FAO AGWL	30.8	17.3	362.8	25.4	357.2	27.1
Empirical method	-126.7	12.4	284.3	32.4	283.4	21.4
USDA	-81.9	13.5	239.7	25.8	223.2	16.5

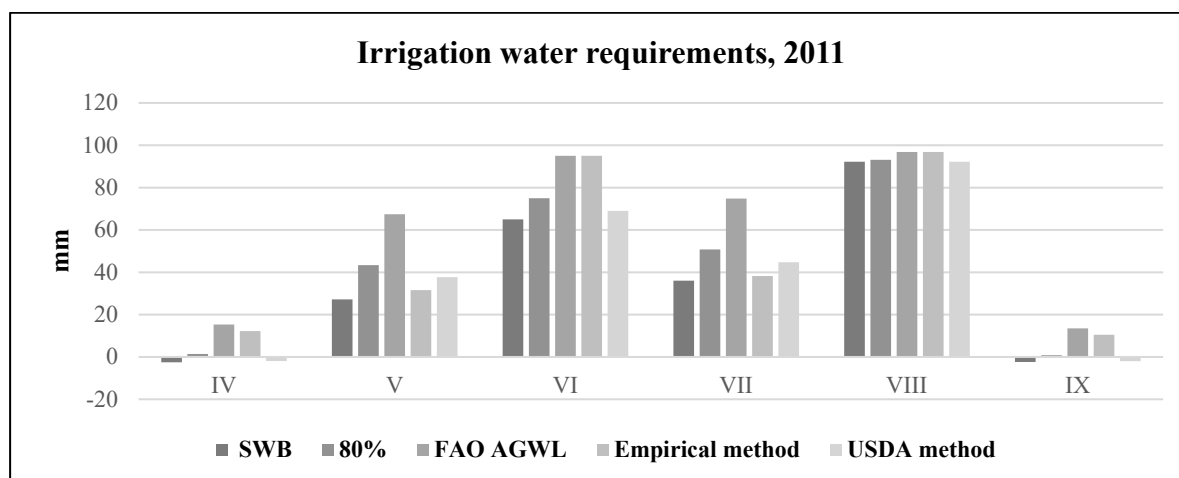
SWB=Simple Water Balance; IWR=Irrigation Water Requirements; WUE=Water Use Efficiency ( $\text{kg ha mm}^{-1}$ )

During the growing season 2010 (April-September), the amount of rainfall (677.25 mm) in the Osijek region was 68.4% higher than LTA (1981-2011). Taking into account the rainfall that fell during the winter period, the amount of rainfall was higher by 841.9 mm, which clearly indicates the fact that it is an extremely wet year (Graph 1), even though there was a short period of dry weather during the month of July. On average across the growing season, IWR ranged from -241 mm (SWB) to 30.8 mm (FAO AGWL). Re ranged from -133.8 mm during the month of June to 109.7 mm (FAO AGWL) during the month of July. As can be seen in Graph 1, according to the FAO AGWL method there was a lack of rainfall during the month of May (20 mm), while the results of other methods suggest that there was an excessive amount of rainfall. Furthermore, according to total rainfall analysis, there was an excessive amount of rainfall during the month of September, yet other analyses have shown a lack of rainfall for maize crop.



Graph 1. Irrigation water requirements during maize growing season 2010 in Osijek region

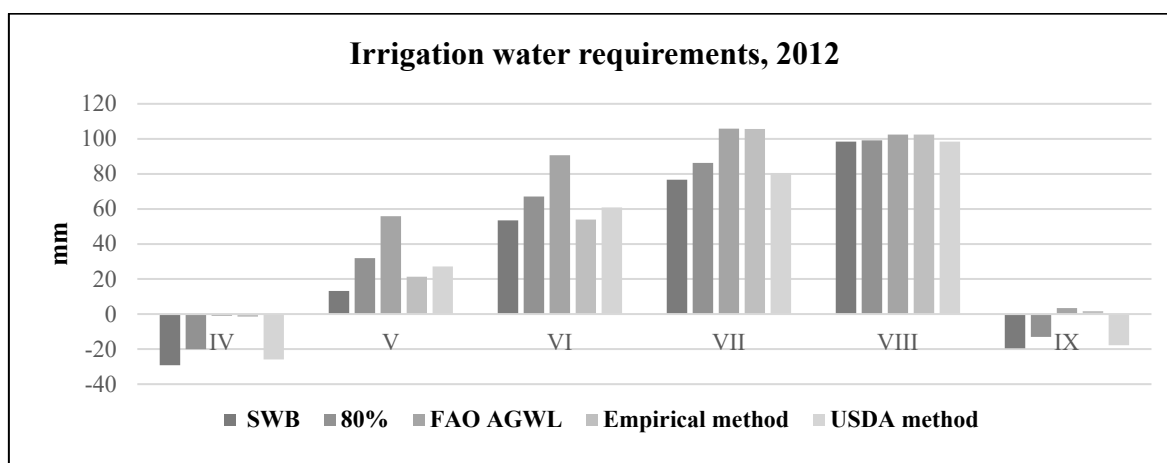
As can be seen in Graph 2, the growing season 2011 was unfavorable for maize crop due to the lack of rainfall during the entire growing season. The USDA method was in close relationship with the SWB, which is in agreement with Patwardhan et al. (1990), since author claims that the USDA method was in fairly good agreement with the daily water balance. The author have also stated that this procedure is suited for well-drained soils, but overpredicted effective precipitation for poorly drained soils.



Graph 2. Irrigation water requirements during maize growing season 2011 in Osijek region

On average across the growing season, IWR ranged from 215.5 mm (SWB) to 362.8 mm (FAO AGWL). As for WUE, the lowest WUE was 23.3 kg ha mm<sup>-1</sup> (SWB), and the maximum WUE was 32.4 kg ha mm<sup>-1</sup> (empirical method). There was a significant lack of rainfall during the entire growing season 2012 (Graph 3). Across the Re estimation method (Table 1), IWR ranged from 193.1 mm (SWB) to 357.2 mm (FAO AGWL).

On average across the growing season, the minimum IWR was 223.2 mm (USDA) and the maximum 357.2 mm (FAO AGWL). During the growing season 2012, the WUE ranged from 14.8 kg ha mm<sup>-1</sup> (SWB) to 28.1 kg ha mm<sup>-1</sup> (FAO AGWL).



Graph 3. Irrigation water requirements during maize growing season 2012 in Osijek region

During the extremely wet growing season 2010, the strongest positive association was established between the ETo and empirical method ( $r = 0.71$ ,  $<0.05$ ) which indicates that this model suits better for wet growing seasons, or humid regions. In the next two dry years, the strongest positive association ( $p < 0.05$ ) was between the ETo and FAO AGWL ( $r = 0.94$ ; 2011 and  $r = 0.99$ ; 2012). So the recommendation for the dry growing season is to use the FAO AGWL for the estimation of Re. As for ETc analysis, the strongest positive association regardless of the climate conditions was for USDA method ( $r = 0.35$ ; 2010,  $r = 0.59$ ; 2011 and  $r = 0.9$ ; 2020). Low rainfall and stress caused by a lack of plant available water are the main limitations to maize yields (Çakir, 2004, Marković, 2013, Marković et al., 2015). In our study maize WUE/rainfall relationships showed that draught rather than an excessive amount of rainfall determined maize yield. In general, the maximum WUE is obtained in growing seasons with less plant available water or rainfall. In this study, this is of course the growing season 2011 and 2012. This statement is in accordance with Gamoun (2016). The author claims that the WUE tended to be higher during dry years and lower during wet years.

## Conclusions

The changing rainfall patterns are likely to affect crop yield, not only the amount of rainfall but also within-season variations and distribution through the growing season. The effectiveness of the rainfall is mainly crop, soil, and climate-dependent. The positive association between growing season rainfall and maize water use efficiency indicates that moisture shortage rather than excess is a major factor determining maize yield. In our study variations in rainfall efficiency as well as water use efficiency were associated with rainfall patterns during the growing season. Therefore it is of great importance to choose the right method for estimation of effective rainfall for different climate conditions not only in dry farming but for proper irrigation scheduling as well.



## References

- Allen R. G., Pereira L. S., Raes D., Smith M. (1998). Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop water requirements. Irrigation and drainage paper No. 56. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization on the United Nations (FAO).
- Ali M. H., Mubarak S. (2017). Effective Rainfall Calculation Methods for Field Crops: An Overview, Analysis and New Formulation. *Asian Research Journal of Agriculture*, 7(1): 1-12.
- Bos M. G., Kselik R. A. L., Allen R. G. (2009). Water requirements for irrigation and the environment. Dordrecht, Springer.
- Brouwer C., Heibloem M. (1986). Irrigation Water Management: Irrigation Water Needs. Training manual no. 3. FAO, Rome, Italy.
- Çakir R. (2004). Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. *Field Crops Research* 89: 1–16.
- Dastane N. G. (1978). Effective rainfall in irrigated agriculture. F.A.O. Irrigation and Drainage Paper 25. FAO, Rome, Italy.
- Fereres E., Soriano M. A. (2007): Deficit irrigation for reducing agricultural use. *Journal of Experimental Botany*, 58(2): 147-159.
- Gamoun M. (6ds of Tunisia. *Land Degradation&Developement*, 27: 738-747.
- Marković M. (2013). Influence of irrigation and nitrogen fertilization on yield and quality of maize grain (*Zea mays* L.). PhD thesis. The University of J.J. Strossmayer in Osijek. Faculty of Agriculture, Osijek, Croatia.
- Marković M., Tadić V., Josipović M., Zebec V., Filipović V. (2015). The efficiency of maize irrigation scheduling in climate variability and extreme weather events in eastern Croatia. *Journal of Water and Climate Change* 6(3): 586–595.
- Osječko-baranjska županija, OBŽ (2011). Informacije o stanju i problematici biljne proizvodnje na području Osječko-baranjske županije. Available from: <http://hidra.srce.hr/arhiva/273/71282/www.obz.hr/hr/pdf/2011/18%20sjednica/Informacija%20o%20stanju%20i%20problematici%20biljne%20proizvodnje%20na%20podrucju%20Osjecko-baranjske%20zupanije.pdf>
- Osječko-baranjska županija, OBŽ (2012). Informacije o stanju i problematici biljne proizvodnje na području Osječko-baranjske županije. Available from: [http://www.obz.hr/hr/pdf/2013/3\\_sjednica/04\\_informacija\\_o\\_stanju\\_i\\_problematici\\_biljne\\_proizvodnje\\_na\\_podrucju\\_obz.pdf](http://www.obz.hr/hr/pdf/2013/3_sjednica/04_informacija_o_stanju_i_problematici_biljne_proizvodnje_na_podrucju_obz.pdf)
- Osječko-baranjska županija, OBŽ (2013). Informacije o stanju i problematici biljne proizvodnje na području Osječko-baranjske županije. Available from: [http://www.obz.hr/hr/pdf/2013/3\\_sjednica/04\\_informacija\\_o\\_stanju\\_i\\_problematici\\_biljne\\_proizvodnje\\_na\\_podrucju\\_obz.pdf](http://www.obz.hr/hr/pdf/2013/3_sjednica/04_informacija_o_stanju_i_problematici_biljne_proizvodnje_na_podrucju_obz.pdf)
- Oweis T. (1997). Supplemental Irrigation: a Highly Efficient Water-use Practice. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria. 16 pp.
- Patwardhan A. S., Nieber J.L., Johns E. L. (1990). Evaluation of effective rainfall estimation methods. *Journal of Irrigation and Drainage, American Society of Civil Engineering*, 116(2):182-193.
- Smith M. (1992). CROPWAT: a Computer Program for Irrigation Planning and Management. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- Wane S. S., Nagdeve M. B. (2014). Estimation of evapotranspiration and effective rainfall using CROPWAT. *International Journal of Agricultural Engineering*, 7(1): 23–26.

## Vertical distribution of soil organic carbon under different nitrogen fertilization levels

Aleksandra Perčin<sup>1</sup>, Željka Zgorelec<sup>1</sup>, Milan Mesic<sup>1</sup>, Dajana Pejaković<sup>2</sup>, Ivana Šestak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of General Agronomy, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Croatia (apercin@agr.hr)

<sup>2</sup> Student of Graduate study Agroecology/Agroecology

### Abstract

Knowledge of nitrogen fertilization contribution to the soil organic carbon (SOC) variability is very important in order to preserve the climate-regulating role of soil through measures of sustainable soil management. The aim of this research was to determine SOC distribution up to 2 meters in drained distric Stagnosol according to different nitrogen fertilization levels. SOC content was determined in 128 soil samples which were sampled from experimental plot (central Croatia, Potok location) after 10 years of fertilization (0, 100, 200, 300 kg N/ha/per year) on eight depths (each 25 cm up to 2 m) in four replications. SOC was determined indirectly by calculation from total soil carbon and carbonate content. Results reveal that long term application of 200 and 300 kg N/ha significantly contribute to SOC enrich especially in surface soil layer. Along with those findings, SOC content was significantly reduced through soil profile on all treatments. The largest SOC stock (615 t/ha) was determined on treatment with 200 kg N/ha applied.

**Keywords:** soil profile, arable land, carbon stocks, Stagnosols

### Introduction

Nowadays, many investigation of soil carbon (C) are focused on its sequestration and management for climate change mitigation (Qaswar et al., 2020) along with investigation of its benefits to soil structure and storage of water and nutrients (Johannes et al., 2017; Callesen et al., 2016.; Zhang and Shangguan, 2016). Climate condition, no-till farming, cover crops, nutrient management, improved grazing, manuring and sludge application promote SOC accumulation (Lal, 2004). Due to the fact that in process of decomposition organic matter binds with silt and clay forming aggregates, highest amount of SOC were found in the silt and clay size fractions, while sand fraction were low in SOC (Yost and Hartemink, 2019). Also, precipitation could influences on soil moisture and hydrological processes (surface runoff and ground water infiltration) which additionally lead to SOC reduction for 25 % more in area with annual precipitation >900 mm year<sup>-1</sup> than in those with precipitation <600 mm year<sup>-1</sup> (Meier and Leuschner, 2010). SOC is also very much influenced by the amount of crop residuals returned in soil as well as the combination of crop straw mulching and no-tillage practices which can increases SOC more than mulching alone especially after a number of years (Gan et al., 2013). Majority of investigations related the SOC vertical distribution were based on SOC variability up to 1 meter depth (Dolan et al., 2006; Melero et al., 2011; Xu et al., 2017) or approximations to the deeper layers up to 3 meters (Jobbagy and Jackson, 2000). Due to the fact that previously in literature studies of SOC distribution in deeper depths were not conducted and published the aim of this research was to determine SOC distribution up to 2 meters depth in distric drained Stagnosol according to different nitrogen fertilization levels.

## Materials and method

In order to achieve a goal of this research 128 soil samples were taken from archive of Department of General Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zagreb. Samples were collected from experimental trail which was establish in 1996 in central part of Croatia in vicinity of village Potok (N 45°33'21.42", E 16°31'44.62") on drained Stagnosols. Detailed trail description, along with trial plot size, treatments, soil and climate conditions, were explained in previous publications (Mesić et al., 2007; Šestak et al., 2019). Table 1 represents the initially state of soil physical and chemical properties according to its genetic horizons.

Table 1. Physical and chemical properties of the investigated soil

Genetic soil horizons		Density, g/cm <sup>3</sup>		Macro aggregate stability (%)	pH		Nutrient status (g/kg)		Organic matter	CaCO <sub>3</sub> %
Mark	Depth (cm)	BD	SD		1 M KCl	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	(%)	(%)	
P	0-32	1.54	2.74	31.2	4.84	0.177	0.105	1.01	-	
Eg	32-52	1.65	2.74	26.9	5.12	0.052	0.072	0.91	-	
Btg	52-97	1.58	2.77	71.9	6.02	0.077	0.064	0.35	0.62	
Cg <sub>1</sub>	97-116	1.57	2.74	73.1	7.41	0.076	0.049	0.22	2.08	
Cg <sub>2</sub>	>116	1.52	2.74	58.3	7.18	0.029	0.039	0.13	0.83	

BD – bulk density; SD – specific particle density

The trial covers 4 ha and it is established as block design with 9 mineral nitrogen fertilization treatments and 4 replications. These 128 soil samples were taken 10 years after the application of mineral fertilizers from four treatments (0, 100, 200 and 300 kg N /ha/per year) and four replication during maize vegetation (V3 growth stage) in June 2007. Samples were taken up to two meters depth in 25 cm increments (0-25, 25-50, 50-75; 75-100, 100-125, 125-150, 150-75, 175-200 cm). Archive samples which were already air dried, homogenised and sieved (< 2 mm) and SOC content was indirectly determined according to ISO 10694 (2005). In first step total soil carbon (TOC) was determined by dry combustion method and in the second step carbonate content (CaCO<sub>3</sub>) was determined by volumetric method (ISO 10693, 1995). SOC content was calculated by following equation:  $\omega_{SOC} = \omega_{TOC} - (0.12 \times \omega_{CaCO_3})$  and expressed as percentage on the basis of oven-dried soil. On each treatment for each depth SOC stocks were calculated by following equation:  $SOC (kg/ha) = TOC (\%) \times 10000 \times (depth/10) \times bulk\ density$ . SOC stocks on each treatment represent a sum of SOC amount up to 2 m depth. Quality Assurance/Quality Control were included in analysis and were satisfactory. SAS software (version 9.1.3.) was used for statistical analyse of the data. One-way analysis of variance (ANOVA) was used to calculate the standard errors and compare the means. Multiple comparisons among means of SOC between four treatments at each depth as well comparisons among means of SOC between eight depths at each treatment were performed with Fisher's LSD test at probability level of  $P < 0.05$ . Pearson's correlation factor was obtained between total nitrogen in soil and TOC.

## Results and discussion

Table 2 shows the ANOVA results and influence of fertilization treatments and depths on SOC variability. Taking into account the error probability of 5 % ( $p < 0.05$ ) fertilization treatments significantly contributed to SOC variability at the following depths: 0-25 cm, 100-125 cm, 125-150 cm, 150-175 and 175-200 cm, while on each treatment SOC content was significantly influenced by depth especially up to 1 meter.

Table 2. Results of ANOVA analysis according to investigations factors

Influence of fertilization (treatments) on SOC content according to soil depths								
Depth (cm)	0-25	25-50	50-75	75-100	100-125	125-150	150-175	175-200
Pr>F	< 0.001	0.081	0.7697	0.6338	0.0007	0.0045	0.0278	< 0.0001
LSD (%)	0.107	0.196	0.145	0.148	0.066	0.190	0.292	0.159
Influence of soil depth on SOC content according to treatments								
Nitrogen rate (kg/ha)	0		100		200		300	
Pr>F	< 0.0001		< 0.0001		< 0.0001		< 0.0001	
LSD (%)	0.052		0.149		0.211		0.200	

SOC content was significantly affected by mineral fertilization in the surface soil layer and then from one to two-meter depth is also presented in figure 1. At 0-25 cm depth, N200 and N300 treatments had significantly higher SOC concentration in addition to N0 and N100. Although no statistically significant increase was found, the relative contribution of N200 treatment was recorded at three depths (25-50 cm, 50-75 cm, 75-100 cm) where SOC content increased on average by 41.4%. At the penultimate two depths, a significant contribution of 200 and 300 kg/ha applied nitrogen was recorded again and SOC status at the deepest sampling point was 0.676% on N200 treatment and 0.456% on N300 treatment. These findings, especially distribution up to one meter depth are in agreement with other authors (Melero et al., 2011; Xu et al., 2017). Nitrogen fertilization increase crop productivity and plant residues that are introduced into the soil (Dersch and Böhm 2001; Holeplass et al. 2004). Nitrogen fertilization on SOC status is conditioned by the net balance between the amount of plant residues, primary source of SOC in soil as well as rate of soil mineralization. Also, results reveal that the SOC content was completely and positively correlated ( $r = 0.921$ ) with total nitrogen (TN) in soil through whole profile (figure 2).

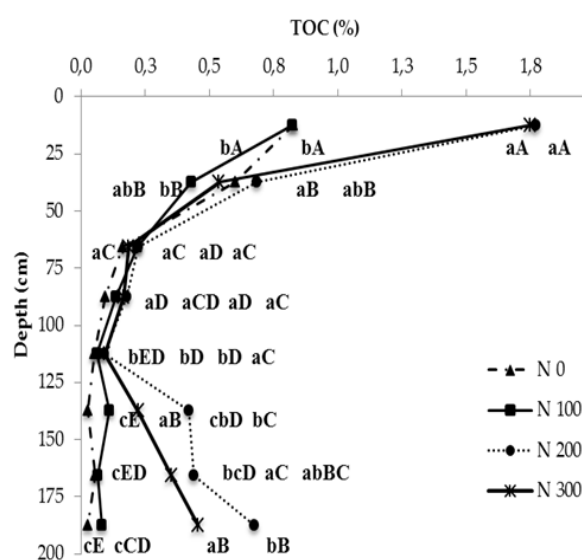


Figure 1. Vertical distribution of SOC under different nitrogen fertilization levels

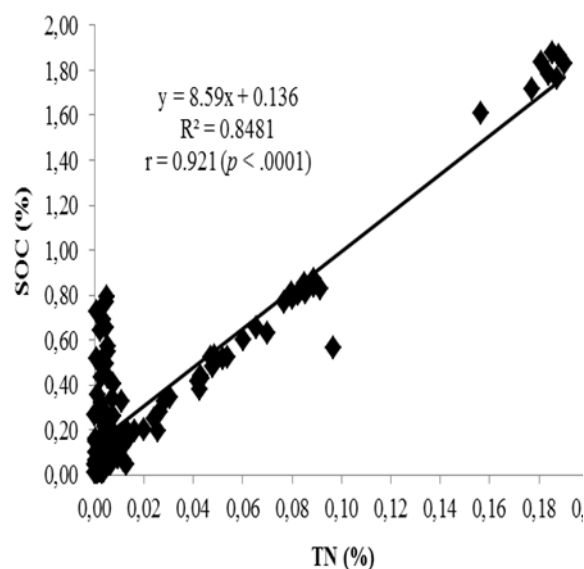


Figure 2. Regression and Pearson correlation coefficient between SOC and TN in soil

\*Mean values marked with different small letter at each depth designate a significant contribution of treatment on SOC variability, while mean values marked with different capital letter at each treatment designate a significant contribution of depth on SOC variability.

In terms of influence of soil depth some authors (Dolan et al., 2006; Jagadamma et al., 2007) also reported the decrease of SOC with depth at different N rates. It is noticeable, for example on N200 treatment, that SOC content significantly differs and decrease in soil profile from 0-75 cm. After that depth, SOC values decreases relatively from 0.1779% to 0.095% without significant differences. The influence of soil depth is recorded again at the last two depths and ranges from 0.438% (150-175 cm) to 0.676% (175-200 cm). Due to the fact that soils hold the largest biogeochemically active terrestrial carbon pool on Earth, nowadays many investigations include calculations of storage SOC. This experiment was set up in area with temperate climate and Olson et al. (2001) estimated that soils in that climate contain 95 Pg ( $95 \times 10^{12}$  kg) of SOC, while, Kirschbaum (2000) calculated that soils in the whole world contain around 2400 Pg ( $24 \times 10^{14}$  kg) of SOC up to 2 meters of depth and if only 10 % of that amount were released in atmosphere it would be equivalent to all the anthropogenic CO<sub>2</sub> emitted over 30 years. Compared to those values investigated soil from an experiment contributed to the SOC content up to two-meter depth in this climate zone in the range from  $15.5 \times 10^4$  kg/ha to  $61.5 \times 10^4$  kg/ha. According to FAO (2017) database mean SOC stocks value up 1 meter in 565 profiles of Gleysols in the world was  $5.6 \times 10^4$  kg/ha.

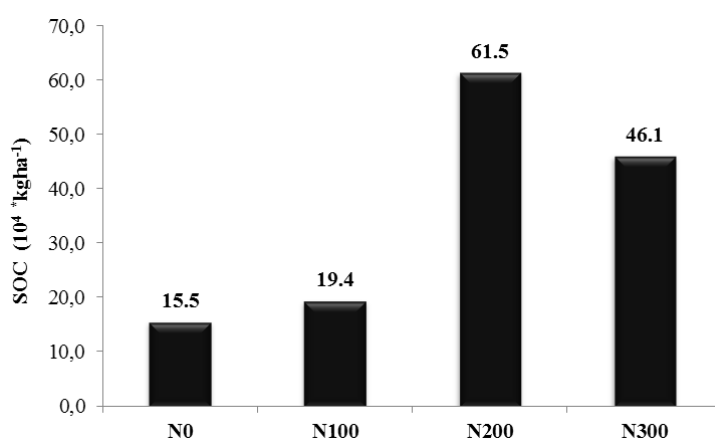


Figure 3. Summary of SOC stocks up to 2 m depth under different nitrogen fertilization levels

## Conclusions

This results shows that after 10 years of application increased nitrogen fertilization levels significantly enhances SOC content, especially amount of 200 kg N/ha (0-50 cm and 125-200 cm). Also, long term fertilization significantly rearranges the vertical SOC distribution up to two meter depth. Between depths and treatments SOC varied from 0.027% to 1.772%. On average, nitrogen fertilization contributes 2.73 times more to SOC stocks in soil than control treatment and indicates a positive influence of nitrogen fertilization on carbon sequestration in soil, especially in surface (P) and deeper horizons (C).

## References

- Callesen, I., Harrison, R., Stupak, I., Hatten, J., Raulund-Rasmussen, K., Boyle, J., Clark, N., Zabowski, D. (2016). Carbon storage and nutrient mobilization from soil minerals by deep roots and rhizospheres. *Forest Ecology and Management*. 359: 322-331.
- Dersch, G. and Böhm, K. (2001). Effects of agronomic practices on the soil carbon storage potential in arable farming in Austria. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 60, 49–55.
- Dolan, M. S., Clapp, C.E., Allmaras, R. R., Baker, J. M., Molina, J. A. E. (2006). Soil organic carbon and nitrogen in a Minnesota soil as related to tillage, residue and nitrogen management. *Soil & Tillage Research*. 89: 221–231.

- FAO (2017). Global Soil Organic Carbon Database (at 30 arcsec). Food and Agriculture Organization of the United Nations and Euro-Mediterranean Center on Climate Change Foundation.
- Gan, Y., Siddique, K. H. M., Turner, N. T., Li, X. G., Niu J. Y., Yang, C., Liu, L., Chai, Q. (2013). Chapter Seven - Ridge-Furrow Mulching Systems—An Innovative Technique for Boosting Crop Productivity in Semiarid Rain-Fed Environments. *Advances in Agronomy*, 118: 429-476.
- Holeplass, H., Singh, B. R., Lal, R. (2004). Carbon sequestration in soil aggregates under different crop rotations and nitrogen fertilization in an inceptisol in southeastern Norway. Kluwer Academic Publishers, *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 70, 167–177.
- ISO 10694 (2005). Soil quality - Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis).
- ISO 10693 (1995).
- Jagadamma, S., Lal, R., Hoefft, R. G., Nafziger, E. D., Adee, E. A. (2007). Nitrogen fertilization and cropping systems effects on soil organic carbon and total nitrogen pools under chisel-plow tillage in Illinois. *Soil & Tillage Research*. 95: 348–356
- Jobbagy, E.G. and Jackson, R. B. (2000). The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications*. 10 (2):423-436.
- Johannes, A., Matter A., Schulin, R., Weiskopf, P., Baveye, P.C., Boivin, P. (2017). Optimal organic carbon values for soil structure quality of arable soils. Does clay content matter? *Geoderma*. 302: 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.04.021>
- Kirschbaum, U. F. M. (2000.) Will changes in soil organic carbon act as a positive or negative feedback on global warming? *Biogeochemistry*. 48:21-51.
- Lal, R. (2004). Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security. *Science*. 304: 1623-1627. DOI: 10.1126/science.1097396
- Meier, I. C. and Leuschner, C. (2010). Variation of soil and biomass carbon pools in beech forests across a precipitation gradient. *Global Change Biology* 16:1035–45.
- Melero, S., Lopez-Bellido, R. J., Lopez-Bellido L., Munoz-Romero, V., Moreno, F., Murillo, J. M. (2011). Long-term effect of tillage, rotation and nitrogen fertiliser on soil quality in a Mediterranean Vertisol. *Soil & Tillage Research*. 114: 97–107.
- Mesić, M., Kisić, I., Bašić, F., Butorac, A., Zgorelec, Ž., Gašpar, I. (2007). Losses of Ca, Mg and SO<sub>4</sub>-S with Drainage Water at Fertilisation with Different Nitrogen Rates. *Agriculturae conspectus scientificus*. 72 (1): 53-58.
- Olson, D. M., Dinerstein, E., Wikramanayake, E. D., Burgess, N. D., Powell, G. V. N., (2001). Terrestrial ecoregions of the world: a new map of life on Earth. *BioScience* 51:933–38
- Šestak, I., Mihaljevski Boltek, L., Mesić, M., Zgorelec, Ž., Perčin, A. (2019). Hyperspectral sensing of soil pH, total carbon and total nitrogen content based on linear and non-linear calibration methods. *Journal of central European agriculture*, 20 (1): 504-523.
- Zhang, Y. W. and Shangguan, Z. P. (2016). The coupling interaction of soil water and organic carbon storage in the long vegetation restoration on the Loess Plateau. *Ecological Engineering*. 91: 574-581.
- Qaswar, M., Jing, Ahmed W., Dongchu, L., Shujun, L., Lu, Z., Cai, A., Lisheng, L., Yongmei X., Jusheng, G., Huimin, Z. (2020). Yield sustainability, soil organic carbon sequestration and nutrients balance under long-term combined application of manure and inorganic fertilizers in acidic paddy soil. *Soil and Tillage Research*, 198. <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104569>
- Xu, Y., Pu, L., Liao, Q., Zhu, M., Yu, X., Mao, T., Xu, C. (2017). Spatial Variation of Soil Organic Carbon and Total Nitrogen in the Coastal Area of Mid-Eastern China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 14, 780.
- Yost, J. L. and Hartemink, A. E. (2019). Soil organic carbon in sandy soils: A review. *Advances in Agronomy*, 158: 217-310.

## Mogući model čišćenja površinskih voda organizacijom malih vrtnih jezerca u Našicama

Jura Perković, Gloria Ninković, Alka Turalija

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (alka.turalija@fazos.hr)*

### Sažetak

Grad Našice ima visoki stupanj zagađenja površinskih voda. Izmjere kakvoće vode tri vodna tijela prema izmjerama Hrvatskih voda (pokazuju da su vodna tijela dionice Našičke rijeke vrlo lošeg ukupnog stanja, dok su hidromorfološka svojstva dobra. Stoga je nužno u budućnosti osigurati mjere zaštite i mogućeg poboljšanja kvalitete površinskih voda. Ujedno je potrebno i voditi računa o mogućim negativnim posljedicama ispuštanja komunalnih voda u vodotoke. U radu je prikazan mogući model smanjenja opterećenja vodotoka korištenjem kućnih biouređaja za pročišćavanje komunalnih otpadnih voda, te „Cradle-to-Cradle“ sustav korištenja, kao i svrha organizacije malih kućnih jezerca. Izrađena je i analizirana anketa građana koji su spremni učiti i prihvatiti moderne tehnologije za očuvanje okoliša i poboljšanje ukupne kvalitete života.

**Ključne riječi:** kakvoća, površinske vode, pročišćavanje, vrt, jezerce

### Uvod

Grad Našice smješten je na obroncima Krndije na nadmorskoj visini od 154 m. Unutar strategije razvoja (Strategija razvoja Grada Našica za razdoblje 2015. - 2020.) određen je pravac budućeg razvoja koji je usmjeren na ekološku poljoprivredu i ruralni turizam. Swot analiza unutar iste Strategije je pokazala da su slabosti: depopulacijski trend, nedostatak vode u sušnom razdoblju, ali i slaba motiviranost građana za EU projekte. Vizija grada uključuje i urbano okruženje, te razvoj obrazovanja kroz društvene djelatnosti i organizacije civilnog društva. Problem grada su otpadne vode industrije i komunalnog sustava privanih i poslovnih stambenih objekata, koje onečišćuju postojeće vodotoke, kao i okruženje intenzivnim poljodjelstvom. Sastav tla je dvojakog karaktera, pojavljuje se lesivirano tlo i aluvijalne naslage (Ires ekologija, 2016.). Prema Köppenovoj klasifikaciji (Šegota i Filipčić, 2003) to je područje koje se označava klimatskom formulom Cfwbx, što je oznaka za umjereno toplu, kišnu klimu, umjerene kontinentalne zone. Prema podacima Državog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ, 2021.) usljed nasrtupajućih klimatskih promjena do 2040., temperatura zraka u Hrvatskoj povećat će se za 1.5°C, a do 2070. broj sušnih razdoblja će se povećati za 2-3 puta u odnosu na referentno razdoblje mjerenja u 2011 (Patarčić, 2021). Analiza kakvoće vode tri različita vodna tijela površinskih voda (vodna tijela CDRN0090\_001 (Našička rijeka), CDRN0090\_002 (Našička rijeka) i CDRN0110\_001 (Lapovac)) nije pokazala zadovoljavajuće stanje. Sva tri navedena vodna tijela pripadaju vodnom području rijeke Dunava te podslivu rijeka Drave i Dunava. Prema rezultatu ispitivanja kakvoće vode i objavi Hrvatskih voda, ukupno ekološko stanje prva dva vodna tijela, koja se odnose na Našičku rijeku, je označeno kao *vrlo loše*, dok je stanje Lapovca *umjereno loše*. Područje podzemnih voda nalazi se unutar Tijela podzemnih voda (u daljnjem tekstu: TPV) CDGI\_23 Istočna Slavonija - Sliv Drave i Dunava. TPV CDGI\_23 površine je 5009 km<sup>2</sup>, a karakterizira ga međuzrnska poroznost (Kuricek et al., 2015.). Prema istim podacima, TPV CDGI\_23 ocjenjeno je kao dobrog kemijskog i količinskog stanja, a unutar Nacionalne klasifikacije staništa i izvodu iz Karte kopnenih nešumskih staništa

Republike Hrvatske, lokacija planiranih zahvata nalazi se na području četiri različita stanišna tipa: šumske sastojine *Carpino betuli-Quercetum roboris* (Nikolić, 2004) površine od 1,67 ha; mozaika površine 4,63 ha šumskih sastojina i mezofilnih livada košanica Srednje Europe te izgrađenih i industrijskih staništa površine 4,44 ha. Od navedenih stanišnih tipova, sukladno Pravilniku o popisu stanišnih tipova, karata staništa te ugroženim i rijetkim stanišnim tipovima (NN 88/14) šumske sastojine i mezofilne livade košanice Srednje Europe pripadaju rijetkim i ugroženim stanišnim tipovima. Prema podacima Bioportala (2021.) na području Grada Našice nalazimo tri kritično ugrožene (CR), dvije ugrožene (EN) i pet osjetljivih (VU) vrsta, a sve navedene vrste ujedno su i strogo zaštićene sukladno Pravilniku o strogo zaštićenim vrstama (NN 144/13, 73/16). Cilj rada je prikazati mogući model poboljšanja kakvoće površinskih voda i očuvanja bioraznolikosti, izgradnjom biosustava za pročišćavanje komunalnih otpadnih voda tj. izgradnjom malih vrtinih jezerca kao dio tog sustava, a koja bi ujedno zaštitila ugrožene biljne i životinjske vrste.

## Materijal i metode

U radu su primijenjene kvalitativne metode analize i sinteze, koje su prikazane metodom deskripcije. Analizirano je područje grada prema stambenim jedinicama i povezano u sustav koji djeluje pojedinačno, ali i povezano u smislu zajedničkog cilja, poboljšanja kakvoće vode i očuvanje bioraznolikosti. Pri oblikovanju jezera primjenjena je metoda generalizacije i specijalizacije, na način da su se općim pravilima dodavale specifičnosti pojedinog prostora s obzirom na geografske značajke. Metodom deskripcije objašnjeni su određeni pojmovi i pojavnosti, a metodom anketiranja posebno kreiranim upitnikom (na modelu Google obrazaca) koji se je sastojao od 11 pitanja, prikazano je mišljenje građana. Uzorak je odabran slučajnim odabirom i anketu je ispunilo 85 građana. Unutar rada primijenjeni su primarni, sekundarni i tercijarni izvori informacija.

## Rezultati i rasprava

Prostorno promatrajući, grad Našice se nalazi na prostoru obronaka Krndije i jednim dijelom u nizini, koja je iskorištena u svrhu poljoprivrede (sl.1). Brdska područja u neposrednoj okolini Našice prekrivena su šumom, dok je urbano područje grada podijeljeno na 17 zasebnih urbanih cjelina (1+16, što podrazumijeva područje užeg centra grada i 16 pripadajućih naselja). Unutar uže cjeline grada, grad možemo podijeliti na povijesnu jezgru (centar) i stambene blokove koji se pretežno sastoje od tipično organiziranih parcela s kućama koje su građene kao prizemnice i imaju velike okućnice. Prostorna analiza šireg područja grada (PPU grada Našice, „Službeni glasnik Grada Našice“ broj 11/06., 2/10., 8/15., 8/17. i 1/18. - pročišćeni tekst) ne prikazuje moguću krajobraznu ranjivost prostora budućim razvojem, no krajobrazno planiranje unutar istog, izostaje. Granice zahvata promatranog područja prikazane su na slici 1. Unutar promatranog područja nalazi se ukupno 4172 objekta, što u naravi čine kuće s okućnicama i stambeni blokovi četverokatnih zgrada. S obzirom na veličinu i organizaciju gradnje, razlikujemo tri osnovna tipa stambenih naselja. Kod prvog i nastarijeg tipa (kuće građene poslije II. svj. rata pa do 80-tih godina 20.stoljeća) prisutne su parcele izduženog, pravokutnog oblika (sl. 2) veličine 600 -1400 m<sup>2</sup> (prema Geoportal DGU-prikaz površina promatranih građevnih parcela za grad Našice), gdje se izgrađenost kreće do 15% po parceli. Kod drugog tipa naselja novije izgradnje (kuće građene poslije Domovinskog rata kasnih 90.tih godina 20. stoljeća) koja su površinom parcela ujednačena i gdje se površina parcela kreće od 600 - 700 m<sup>2</sup> (sl. 3), izgrađenost parcele je 21%. Treći tip naselja čine tipske četverokratne zgrade s pripadajućom zelenom površinom i parkiralištima, pri čemu se veličina parcele na kojoj je smješteno 12 tipskih objekata kreće do 10.000 m<sup>2</sup>, a izgrađenost parcele kreće se do 33% (sl. 4). Odnos izgrađenosti i neizgrađenosti parcela u sva tri naselja kreće se unutar omjera 40:60 u korist neizgrađene



zelene površine, što ostavlja dovoljno mjesta za izgradnju malog jezera. Unutar okućnice većine inventariziranih objekata-privatnih kuća grada Našice, tradicionalno se unutar starije izgradnje (kuće i naselja formirana poslije II. svjetskog rata pa do 80.-tih godina 19.stoljeća), ponavljaju slijedeći elementi: kuća s trijemom, pomoćne dvorišne prostorije (ljetna kuhinja, pušnica, čardak, garaža, kokošinjac, svinjac, drvarnica, ambar), bunar, sustav popločenih staza, te florni elementi voćkarica, pergola od vinove loze, te ogradom odvojeni utilitarni vrt (bašča) koji se je obično sastojao od voćnjaka, brajdi vinove loze i povrtnjaka.



Sl. 1. Plan namjene površina grada Našice-urbane i poljoprivredne površine s ucrtanim granicama promatranog područja

Izvor: PPU grada Našice,

<https://www.nasice.hr/dokumenti/prostorni-planovi>



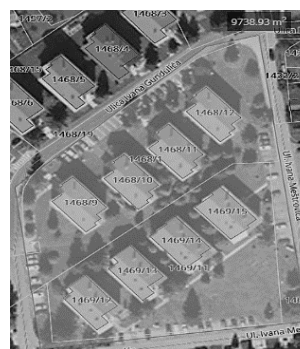
Sl. 2. Najstariji tip šireg dijela grada su samostojeće kuće s izduženim parcelama i velikim okućnicama, koje nisu ujednačene površine

Izvor: geoporta DGU



Sl. 3. Tip novijih naselja tipskih kuća s ujednačenim parcelama u Našicama

Izvor: geoporta IDGU



Sl.4. Tipsko naselje četverokatnih zgrada

Izvor: geoportala DGU

Unutar klimatskih uvjeta, nema nikakvih prepreka za primjenu biljnih uređaja u Hrvatskoj, tako da se biljni uređaji mogu koristiti u pročišćavanju različitih vrsta otpadnih voda, a najčešća primjena je u pročišćavanju komunalnih otpadnih voda manjih naselja, tj. uređaja do 2000 ES (Stanković, 2017). Pravilnikom o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 80/13, 43/14, 27/15 i 3/16) ograničene su granice onečišćenja. Izraelski sustavi za čišćenje crne i sive vode iz domaćinstva bez cijevi, pumpi ili betonskih spremišta za vodu, tvore „aktivni krajobraz“. Eli Cohen, izumitelj sustava fitoremedijacije koji je prikazan na WAREC Expou u Tel Avivu (Water Tehnology and Environment Control, održan od 18-21.11.2019.), u sustav ugrađuje autohtone biljne vrste. Sustav je konstruiran s kombinacijom biotičkih i abiotičkih komponenata, kombinacijom biljka i kamenih agregata, različitih unutarnjih hidrauličkih rasporeda. Nakon primjene takvog čišćenja otpadnih voda iz

domaćinstva (crna i siva voda) rezultati su slijedeći: smanjenje BPK (biokemijske potrošnje kisika) je 98%, smanjenje KPK (kemijske potrošnje kisika) je 96%, te smanjenje TDS (ukupne otopljene tvari-anorganske soli) je 96%. Nadalje, istraživanje Indijskog instituta za poljoprivredu, postrojenje za pročišćavanje otpadnih voda koje se sastoji od tri pročišćavanja organskim supstratom (pijesak, šljunak) i zasađenom vrstom *Typha latifolia* otklonio je zamućenost (99%), nitrata (95%), fosfate (90%), teške metale (81-99%) i BPK (87%). Takvim sustavom postiže se *Cradle to Cradle* kružna metoda reciklaže tj. ponovno korištenje reciklirane vode u sustavu jezera, a kasnije i odvođenje viška vode u vrt za zalijevanje. Na području Našica zabilježene su biljne vrste pogodne za sustave čišćenja sive i crne vode i izradu malih kućnih jezera, između kojih se nalaze i biljne vrste opisane u Crvenoj knjizi vaskularne flore Hrvatske (Nikolić i Topić, 2005), to su: *Carex bohemica* Schreb., *Galium rubioides* L., *Limosella aquatica* L., *Myosurus minimus* L., *Trifolium michelianum* Savi, *Typha laxmannii* Lepech., *Typha minima* Funck, *Hippuris vulgaris* L., *Marsilea quadrifolia* L., *Menyanthes trifoliata* L., *Ranunculus lingua* L., *Carex panicea* L., *Carex riparia* Curtis, *Carex rostrata* Stokes ex With., *Carex vesicaria* L., *Cyperus fuscus* L., *Cyperus glomeratus* L., *Cyperus longus* L., *Cyperus michelianus* (L.) Link, *Equisetum hyemale* L., *Fritillaria meleagris* L., *Stratiotes aloides* L., *Wolffia arrhiza* (L.) Horkel ex Wimm., *Lindernia procumbens* (Krock.) Philcox te *Calla palustris* L. Ugradnjom spomenutih biljnih vrsta u vrtu jezera, a koje se mogu nabaviti unutar Botaničkog vrta u Zagrebu, čuva se bioraznolikost. Osim ugroženih biljnih vrsta u okolici su prisutne biljne vrste vodenih staništa kao što su *Typha latifolia* L., *Nymphaea alba* L., *Nuphar lutea* Sibth. et Sm., *Iris pseudacorus* L., *Lemna minor* L. te biljne vrste koje rastu uz vodu *Myosotis scorpioides* L., *Caltha palustris* L., *Lythrum salicaria* L. i *Mentha aquatica* L. Unutar faune bitno je u jezera nastaniti vodozemce koji su posljednjih godina u Hrvatskoj ugroženi (*Rana esculenta* (Linnaeus, 1758) - zelena žaba, *Hyla arborea* Linnaeus, 1758 – žaba gatalinka, *Bombina bombina* (Linnaeus, 1761) – žaba crveni mukač), gmazove (*Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758.) – močvarna kornjača); te ribe kao što je čikov (*Misgurnus fossilis* (Linnaeus, 1758)). Sprečavanje najezde komaraca, uz žabe čiji su dio ishrane, a koje su danas ugrožene, može se suzbiti i kukcima koji se njima hrane kao što je vretenca (npr. *Anax imperator* (Leach, 1815- veliki car i dr.) ili algom harom (*Chara spp.*). Rezultati provedene ankete u kojoj je sudjelovalo 85 građana Našica koji posjeduju kuće u gore navedenim naseljima, a koja je bila vidljiva na Google anketnom obrascu posebno kreiranim upitnikom od razdoblja 15.01. do 15.03., vidljivi su u Tablici 1. Rezultati ankete pokazuju dobru informiranost građana i volju za organizaciju mliih kućnih jezera uz financijsku potporu lokalne uprave.

Tablica 1. Rezultati ankete o malom kućnom jezercu i pročišćavanju komunalnih voda

Red. br.	Pitanja	Odgovori; %	
		DA	NE
1.	Jeste li upoznati s pročišćivanjima komunalnih otpadnih voda? 85 rezultata	18,8	61,2
2.	Jeste li spremni sudjelovati na besplatnim radionicama o mogućnosti poboljšanja kvalitete površinskih voda? 84 rezultata	64,3	35,7
3.	Jeste li spremni stećena znanja primijeniti u vrtu? 84 rezultata	70,2	29,8
4.	Jeste li spremni upotrijebiti takve vode u domaćinstvu ako je garantirana visoka kakvoća? 83 rezultata	79,5	20,5
5.	Mislite li da bi grad trebao sufinancirati ili osigurati novce putem EU projekata? 84 rezultata	81,0	19,0
6..	Mislite li da je takav projekt primjenjiv na cijeli grad Našice, 84 rezultata	63,1	36,9

## Zaključak

Grad Našice ima problem s onečišćenim površinskim tokovima pripadajućih rijeka i potoka. Također je zbog intenzivne poljoprivrede i sječe okolnih šuma, smanjeno stanište biljnim i životinjskim zajednicama, vrste od kojih su neke i strogo zaštićene, a što se osobito odnosi na vlažna i vodena staništa. Organizacija naselja na području grada koje čine zatvorene kružne cjeline, omogućuje ugradnju manjih sustava pročišćivača otpadnih komunalnih voda uz ugradnju jezera koje ima više funkcija: čišćenje vode uz pomoć autohtonih biljaka, očuvanje bioraznolikosti flore i faune, te ponovno iskorištenje reciklažne vode u sustavu navodnjavanja i upotrebi tehničke vode u domaćinstvu (Cradle to Cradle sustav). Edukacijom građana i slijedom njihovog mišljenja unutar dobivenih rezultata ankete, većina je građana spremna učiti i vjeruje modernim sustavima pročišćavanja otpadnih komunalnih voda, te pristaje unutar svog vrta ugraditi mala jezera. Većina građana je spremna prihvatiti projekt uz sufinanciranje grada i mišljenja je, da je takav projekt primijenjiv na cijelo analizirano područje grada.

## Literatura

- Cohen, E. (2019). Natural born pollution killers: Ayala water and ecology., <https://atlasofthefuture.org/project/ayala-water-and-ecology/>.(18.10.2020.)
- Državni hidrometeorološki zavod (DHMZ). Klima, raspoloživo, [https://meteo.hr/klima.php?section=klima\\_hrvatska&param=k1](https://meteo.hr/klima.php?section=klima_hrvatska&param=k1). (18.10.2020.)
- EUR-Lex Direktiva 200/60. (2014). Direktiva 200/60 Europskog parlamenta i Vijeća od 23.listopada 2000. o uspostavi okvira za djelovanje Zajednice u području vodne politike, Special edition in Croatian: Chapter 15 Volume 001 P. 48 – 119.
- Flora Croatica database, <https://hirc.botanic.hr/fcd/>.
- Ires ekologija (2016). Eaborat zaštite okoliša: Ocjena o potrebi procjene utjecaja na okoliš za zahvat „Sanacija i uređenje parka u Našicama“, [https://mingor.gov.hr/UserDocsImages//ARHIVA%20DOKUMENATA/ARHIVA%20---%20OPUO/2017/elaborat\\_zastite\\_okolisa\\_743.pdf](https://mingor.gov.hr/UserDocsImages//ARHIVA%20DOKUMENATA/ARHIVA%20---%20OPUO/2017/elaborat_zastite_okolisa_743.pdf).(10.08.2020.)
- Kuricek T., Vidaković-Gelenčir M., Malovčak E., Ganzberger D., Toth I., Dvoržak D. Čačić M. (2015.). Strategija razvoja Grada Našica za razdoblje 2015. - 2020., Grad Našice.
- Nikolić T. ed. (2004): Flora Croatica baza podataka. On-Line (<http://hirc.botanic.hr/fcd>). Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
- Nikolić, T. i Topić, J. (2005). Crvena knjiga vaskularne flore Hrvatske. Ministarstvo kulture, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- PPU grada Našica (2017). „Službeni glasnik Grada Našica“ broj 11/06., 2/10. , 8/15., 8/17. i 1/18. - pročišćeni tekst, Našice, <https://www.nasice.hr/hr/prostorni-plan/4700-prostorni-plan-uredjenja-grada-nasica.html>. (16.04.2021)
- Patarčić, M. (2021.). Klima i klimatski sustav. Državni hidrometeorološki zavod [https://meteo.hr/klima.php?section=klima\\_modeli&param=klima\\_promjene](https://meteo.hr/klima.php?section=klima_modeli&param=klima_promjene) (20.10.2020.)
- Pravilnik o popisu stanišnih tipova, karti staništa te ugroženim i rijetkim stanišnim tipovima (NN 88/14), [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014\\_07\\_88\\_1782.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014_07_88_1782.html).
- Stanković, D. (2017). Biljni uređaji za pročišćavanje otpadnih voda, Građevinar 69 (2017) 8. 639-652.
- Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 80/13, 43/14, 27/15 i 3/16), [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2020\\_03\\_26\\_622.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2020_03_26_622.html) (10.10.2020.)

## **Possibility of surface water treatment by organizing small garden ponds in Našice**

### **Abstract**

The City of Našice has a high degree of surface water pollution. The measurements demonstrate that the aquatic bodies of the Našice River route are in an extremely bad overall condition, while the hydromorphological characteristics are good. Therefore, it is necessary to secure the protection measures and a possible melioration of surface water quality in the future. Simultaneously, it is necessary to take care of the possible negative consequences of communal waters release in waterways. The paper illustrates a possible model of waterways load reduction while using domestic biodevices for the communal wastewater purification and a Cradle-to-Cradle usage system and a purpose of organizing a small-sized domestic ponds. A poll has also been devised, pertaining to the citizens who are ready to learn and accept the modern technologies for the sake of environment protection and the betterment of on overall life quality.

**Keywords:** purifier, surface waters, garden, small-sized aquatic surfaces

## Utjecaj fungicida i nagiba padine na prostornu akumulaciju bakra u poljoprivrednim tlima

Marija Poljak<sup>1</sup>, Ivica Kisić<sup>2</sup>, Željka Zgorelec<sup>2</sup>, Ivana Šestak<sup>2</sup>, Marija Galić<sup>2</sup>, Željka Kuharić<sup>1</sup>, Mirela Jukić<sup>1</sup>, Antonija Galić<sup>1</sup>, Sandra Šikić<sup>1</sup>, Aleksandra Perčin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nastavni zavod za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar, Mirogojska cesta 16, Zagreb, Hrvatska (marija.poljak@stampar.hr)

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za opću proizvodnju bilja, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Mnogobrojna istraživanja ukazuju da dugotrajna primjena fungicida na bazi bakra uzrokuje onečišćenje poljoprivrednih tala navedenim metalom. Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj nagiba padine i različitog načina korištenja tla na prostornu akumulaciju bakra u poljoprivrednim tlima. Istraživanje je provedeno u listopadu 2019. godine u sjeverozapadnoj Hrvatskoj na površini smještenoj na padini koja obuhvaća: dva vinograda (zatravljeni i nezatravljeni), oranice i livadu. U površinskim (0-10 cm) prosječnim uzorcima tla nakon digestije zlatotopkom sadržaj bakra utvrđen je primjenom atomske apsorpcijske spektrometrije (AAS metodom). Provedena istraživanja ukazuju da je nagib padine pridonio varijabilnosti bakra u tlu, koja se značajno smanjivala od vrha padine gdje su smješteni vinogradi do podnožja na kojem se nalazi oranica i livada. Rezultati dodatno potvrđuju i na djelovanja erozije vodom koja je imala utjecaj na sadržaj bakra u tlu oranice prostorno smještene na padini ispod vinograda. Uvažavajući propisanu nacionalnu legislativu (MDK 120 mg kg<sup>-1</sup>; NN 71/2019) može se zaključiti da je u tlu oba vinograda zabilježen nedozvoljeni sadržaj bakra (135-272 mg kg<sup>-1</sup>), te da je u nastavku padine u tlu oranice i livade utvrđen prihvatljiv sadržaj bakra (40,1-82,0 mg kg<sup>-1</sup>). Dodatno, značajno viši sadržaj bakra u tlu zatravljenog vinograda (245 mg kg<sup>-1</sup>) u odnosu na nezatravljeni vinograd (140 mg kg<sup>-1</sup>) djelomično je uzrokovan višim sadržajem organske tvari u zatravljenom vinogradu.

**Ključne riječi:** vinograd, onečišćenje bakrom, oranica, livada

### Uvod

Povijesni podaci ukazuju da su stare civilizacije upotrebljavale bakar prije više od 10000 godina (Panagos i sur., 2018.) dok se u zaštiti vinove loze od plamenjače vinove loze i crne pjegavosti koristi od 18. stoljeća (Vitanović i sur., 2010.). Godišnje se u Europi primjeni oko 8 kg ha<sup>-1</sup> fungicida u trajnim nasadima te oko 1-2 kg ha<sup>-1</sup> na oranicama dok se u drugim svjetskim regijama fungicidi primjenjuju u većim količinama (Panagos i sur., 2018). Dugotrajno i intenzivno korištenje fungicida na bazi bakra za suzbijanje gljivičnih bolesti dovelo je do akumulacije bakra u poljoprivrednim tlima (Vavoulidou i sur., 2005.; Fernández-Calviño i sur., 2008.; Vitanović i sur., 2010.; Kelepertzis i sur., 2016), od kojih su najugroženija tla vinograda (Jurisic i sur., 2012; Komárek i sur., 2008; Kelepertzis i sur., 2016; Mackie i sur., 2013). Osim vinograda često su bakrom onečišćena tla voćnjaka dok su oranice i livade manje podložne akumulaciji bakra u tlu zbog manje primjene fungicida (Jurisic i sur., 2012; Panagos i sur., 2018). Najviša koncentracija bakra u tlu vinograda izmjerena je u južnom Brazilu (3200 mg kg<sup>-1</sup>) (Mirleana i sur., 2007). Osim u tlima vinograda visoke koncentracije bakra izmjerene su u tlu nasada: hmelja (oko 400 mg kg<sup>-1</sup>), avokada (700 mg kg<sup>-1</sup>), kave (> 1400 mg kg<sup>-1</sup>) i kakaa (2000 mg kg<sup>-1</sup>) (Fernández-Calviño i sur., 2008.). Visoke koncentracije bakra prisutne su i u ekološkim vinogradima i voćnjacima

gdje zbog strogih pravila ne postoji zamjena za fungicide na bazi bakra (Mackie i sur., 2013). Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj nagiba padine i različitog načina korištenja tla na prostornu raspodjelu bakra u površinskom sloju tla: dvaju vinograda, oranice i livade.

## Materijal i metode

Istraživanje je provedeno u sjeverozapadnoj Hrvatskoj, u mjestu Rovno nedaleko od grada Krapine. Istraživana površina veličine 0,33 ha smještena je na jugozapadno orijentiranoj padini s prosječnim nagibom od 21,9 % i obuhvaćala je: dva vinograda, jedan zatravljen i jedan nezatravljen, te oranice i livadu. Promatrani tip tla je Rigosol iz luvisola (Husnjak, 2014). Oba istraživana vinograda smještena su paralelno jedan uz drugi, ispod kojih je smještena oranica, a u nastavku i livada (slika 1). Uzorkovanje tla je provedeno krajem listopada 2019. godine tri mjeseca nakon zadnje primjene bakra u vinogradima. Na oranici i livadi u toj sezoni nisu primjenjivana sredstva na bazi bakra. Ukupno je prikupljeno 12 prosječnih uzoraka tla na dubini 0 cm -10 cm i to s tri položaja (vrh, sredina i podnožje) na padini na svakom od navedenih načina korištenja tla. U zrakosuhim, samljevenim i homogeniziranim uzorcima tla, reakcija tla (1M KCl, omjer 1:2,5 (w/v); HRN ISO 10390:2004), sadržaj humusa (modificirana HRN ISO 14235:2004; sulfokromna oksidacija, volumetrijska detekcija) i bakra (1g tla / 4mL zlatotopke; AAS; HRN EN 13657:2008.) utvrđen je standardnim laboratorijskim metodama. Statistička obrada podataka provedena je u statističkom programu SAS 9.1.3. analizom varijance (ANOVA). Sadržaj bakra analiziran je u tri ponavljanja. Razlike srednjih vrijednosti sadržaja bakra u ovisnosti o smještaju na padini (vrh, sredina i podnožje) pri različitim načinima korištenja tla, testirane su Fisher LSD testom uz vjerojatnost pogreške od 5 %. U istom statističkom programu određeni su Pearsonovi korelacijski koeficijenti (r) kako bi se utvrdilo u kojem smjeru i do kojeg stupnja je varirao sadržaj bakra u ovisnosti o humusu u tlu. Za utvrđivanje prostorne varijabilnosti bakra u tlu i izradu kartografskog prikaza korištena je deterministička prostorna interpolacijska tehnika Inverse Distance Weighting (IDW) u programskom paketu QGIS 3.16.2.

## Rezultati i rasprava

Varijabilnost humusa i reakcije tla s obzirom na različite načine korištenja tla prikazana je u tablici 1. Sadržaj humusa varirao je u rasponu od 1,7 % do 3,6 % na temelju kojeg se promatrana tla mogu svrstati u slabo do dosta humozna (Škorić, 1982.). pH vrijednost kretala se u rasponu od 7,44 do 7,70 što ovo tlo svrstava u klasu alkalnih tala (Škorić, 1982.). Sukladno Pravilniku o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 71/2019) MDK vrijednost bakra za alkalna tla iznosi 120 mg kg<sup>-1</sup>. Shodno tome, analizirajući tablicu 2, uočava se da je u tlu oba vinograda zabilježen prekoračeni dozvoljeni sadržaj bakra (135-272 mg kg<sup>-1</sup>), te da je u nastavku padine u tlu oranice i livade utvrđen sadržaj bakra ispod MDK (40,1-82,0 mg kg<sup>-1</sup>).

Tablica 1. Varijabilnost osnovnih kemijskih značajki tla

	Način korištenja tla			
	Zatravljeni vinograd	Nezatravljeni vinograd	Oranica	Livada
Raspon humusa, %	2,7- 2,9	1,7 – 2,2	2,8 – 3,5	3,5-3,6
Srednja vrijednost humusa, %	2,8	2,0	3,3	3,6
Raspon pH vrijednosti	7,63 - 7,66	7,59 - 7,70	7,65 - 7,68	7,44 - 7,47
Srednja pH vrijednost	7,65	7,66	7,67	7,46

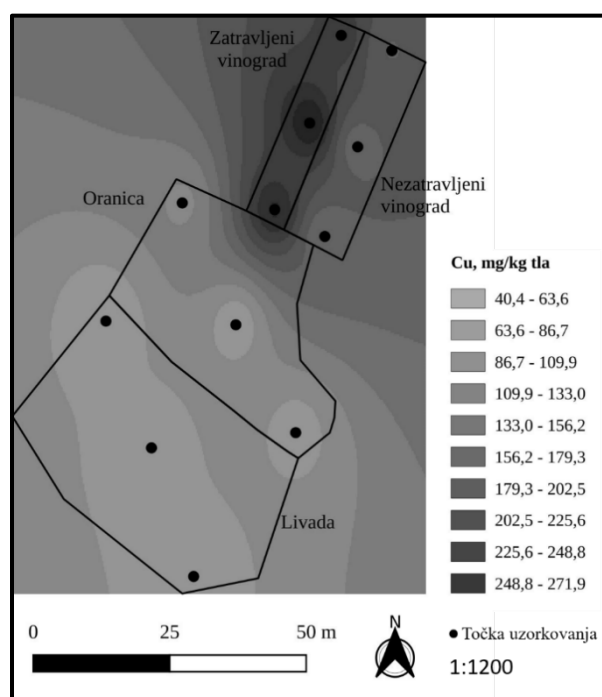
Iz tablice 2 dodatno se uočava da je nagib padine doprinjeo varijabilnosti sadržaja bakra u tlu, koji se značajno smanjivalo od početka padine gdje su smješteni vinogradi do podnožja na kojem se nalazi livada. Također se uočava i značajna razlika u akumulaciji bakra u dva promatrana vinograda s obzirom na njihovu obradu odnosno zatravnjenost. Tako je na sva tri položaja sadržaj bakra u tlu zatravnjenog vinograda (212-272 mg kg<sup>-1</sup>) bio značajno viši u odnosu na njegov sadržaj u nezatravnjenom vinogradu (135-144 mg kg<sup>-1</sup>).

Tablica 2. Varijabilnost sadržaja bakra na padini s obzirom na način korištenja tla

Način korištenja tla	Cu, mg kg <sup>-1</sup>			LSD	r Cu vs. humus
	Položaj na padini				
	Vrh	Sredina	Dno		
Zatravnjeni vinograd	212 cA	272 aA	250 bA	3,15	0,934 <sup>NS</sup>
Nezatravnjeni vinograd	144 aB	141 aB	135 aB	21,4	-0,256 <sup>NS</sup>
Oranica	82,0 aC	52,0 bC	51,8 bC	0,73	-0,999 <sup>**</sup>
Livada	40,1 cD	43,1 aD	41,7 bD	0,65	-0,039 <sup>NS</sup>
LSD	17,4	2,06	2,37		

Tumač: vrijednosti označene različitim malim slovom u pojedinom retku predstavljaju značajnu razliku u sadržaju s obzirom na položaj padine; vrijednosti označene različitim velikim slovom u pojedinom stupcu predstavljaju značajnu razliku u sadržaju s obzirom na način korištenja tla; r - Pearsonov koeficijent korelacije (\*-p<0,05; \*\*-p<0,01; \*\*\*-p<0,001; NS-nije signifikantno).

Utvrđeni sadržaj bakra u svim promatranim uzorcima viši je u odnosu na prosječni sadržaj bakra u tlima koja prema Ballabio i sur. (2018.) u svijetu iznosi 30,0 mg kg<sup>-1</sup>, te prosječni sadržaj bakra u tlima Europe koja prema istom autoru iznosi 16,7 mg kg<sup>-1</sup>. Iz tablice 2 također se uočava da je sadržaj bakra u tlu oranice i livade značajno niži u odnosu na njegov sadržaj u tlima vinograda. Navedeno potvrđuju i Panagos i sur. (2018.) na temelju rezultata analiza 21682 uzorka europskih poljoprivrednih tala prema kojima je najviši sadržaj bakra zabilježen u tlima vinograda, a slijede ih ostali višegodišnji nasadi (maslinici i voćnjaci) dok je najmanje bakra akumulirano u tlima oranica. Potvrdu ovim navodima dodatno potkrjepljuje kratogradski prikaz interpoliranih varijabilnosti bakra na istraživanoj padini (slika 1).



Slika 1. Interpolacija varijabilnosti bakra u tlu s obzirom na njegovo različito korištenje

Značajno viši sadržaj bakra u tlu zatravnjenog vinograda u odnosu na nezatravnjeni vinograd djelomično je uzrokovan višim sadržajem humusa odnosno organske tvari u zatravnjenom vinogradu. Organska tvar ima sposobnost vezanja bakra i smanjivanje njegove mobilnosti kroz profil (Van Der Perk i sur., 2004.; Shi i sur., 2018.). Osim navedenog, razlici u sadržaju bakra između dva istraživana vinograda je vjerojatno doprinijela i primjena različite obrade tla. Obrada tla smanjuje sadržaj bakra u površinskim slojevima (Ballabio i sur., 2018.) te pospješuje eroziju vodom (Bažon i sur., 2013. i Kisić, 2016.). Uspoređujući sadržaj bakra u tlima oba istraživana vinograda s rezultatima istraživanja provedenim u vinogradima Europe može se utvrditi kako je sadržaj bakra u zatravnjenom vinogradu ( $\bar{x}=244,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) i nezatravnjenom vinogradu ( $\bar{x}=140,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ) viši u odnosu na sadržaj bakra u vinogradima Francuske ( $\bar{x}= 99 \text{ mg kg}^{-1}$ ) i Italije te grčke regije Nemea ( $\bar{x}= 111 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Kelepertzis i sur., 2016.). S druge strane sadržaj bakra u oba istraživana vinograda je niži u odnosu na bakar u tlu vinograda francuske pokrajine Bordeaux ( $1500 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Mirleana i sur., 2007.) i Zagrebačke županije ( $\bar{x}= 368 \text{ mg kg}^{-1}$ ) gdje su Romić i sur. (2004.) godine proveli istraživanje u vinogradima na obroncima Medvednice i Žumberačke gore. Premda istraživana oranica prema propisanim MDK vrijednostima nije onečišćena bakrom, prosječni sadržaj bakra ( $\bar{x}= 61,9 \text{ mg kg}^{-1}$ ) za ovakav tip poljoprivrednog tla i dalje je visok osobito ako se uzme u obzir njegova prosječna vrijednost u tlima oranica Europe ( $16,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) kako navode Panagosu i sur. (2018.). Osobito se uočava značajan sadržaj bakra na vrhu oranice ( $82,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ) odnosno položaju neposredno ispod promatranih vinograda i ukazuje na translokaciju bakra iz vinograda erozijom (slika 1). Dalje niz padinu oranice zabilježeno je značajno sniženje ovog metala do sredine padine, ali ne i u nastavku do dna padine (tablica 2) djelomično zbog manjeg utjecaja erozije. Dva su razloga tome. Prvi se odnosi na prosječni nagib oranice (20,4 %) koji je niži u odnosu na prosječni nagib vinograda (26,8 %) te je samim time utjecaj erozije manji. Drugi se odnosi na uzgajane kulture. Na oranici se uzgajaju ratarske i povrtlarske kulture koje doprinose smanjenju erozije tla tako da se većina bakra translociranog iz vinograda zadržava na vrhu padine oranice. Prosječni sadržaj bakra u promatranoj livadi iznosio je  $41,6 \text{ mg kg}^{-1}$  što ju svrstava među europske livade s najvišom koncentracijom bakra uz livade Cipra ( $\bar{x}= 48,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Italije ( $\bar{x}=39,8 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Malte ( $\bar{x}=33,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) i Grčke ( $\bar{x}=30,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Panagos i sur., 2018.). Može se pretpostaviti da su visoke koncentracije bakra u tlu promatrane oranice i livade vjerojatno posljedica dugogodišnje (više od 80 godina) primjene fungicida u vinogradima, odnosno translokacije bakra erozijom niz padinu. Kako istraživanje nije obuhvatilo nepoljoprivredno, prirodno tlo, u kojem bi se mogao utvrditi prirodni sadržaj bakra u tlu istraživanog područja, navedeno se ne može kategorički tvrditi.

## Zaključak

Dugotrajna uporaba fungicida na bazi bakra u promatranim vinogradima doprinijela je onečišćenju tla u kojem je sadržaj bakra prelazio propisanu nacionalnu MDK vrijednost od  $120 \text{ mg kg}^{-1}$ . Geostatička analiza i analiza varijance ukazuju da je primjena fungicida u vinogradima, zbog djelovanja erozije, imala utjecaj na sadržaj bakra u tlu oranice koja je prostorno smještena na padini ispod vinograda. Također, rezultati analize varijance ukazuju na značajnu razliku u sadržaju bakra u tlu koje je korišteno na četiri različita načina, iz čega proizlazi da način korištenja tla, nagib padine i obrada tla, u kombinaciji s drugim faktorima, imaju ključnu ulogu u prostornoj distribuciji bakra u površinskom profilu promatranih tala.



## Literatura

- Ballabio C., Panagos P., Lugato E., Huang J. H., Orgiazzi A., Jones A., Fernández-Ugalde O., Borrelli P., Montanarella L. (2018). Copper distribution in European topsoils: An assessment based on LUCAS soil survey. *Science of The Total Environment* 11: 282-298.
- Bažon I., Bakić H., Romić M. (2013). Soil Geochemistry as a Component of Terroir of the Wine-growing Station Jazbina, Zagreb. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 78(2): 95-106.
- Fernández Calviño D., Nóvoa Muñoz J. C., López Periago E., Arias Estévez M. (2008). Changes in copper content and distribution in young, old and abandoned vineyard acid soils due to land use changes. *Land Degradation and Development*. 19:165-177.
- Husnjak S. (2014). *Sistematika tala Hrvatske*. Zavod za pedologiju, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet Zagreb, Hrvatska sveučilišna naklada, Zagreb.
- Jurisić A., Kisić I., Zgorelec Z., Kvaternjak I. (2012). Influence of Water Erosion on Copper and Sulphur Distribution in Vineyard Soils. *Journal of Environmental Protection and Ecology*. 880-889.
- Kelepertzis E., Hashimoto Y., Wang S-L., Ban T. (2016). Copper Accumulation in Vineyard Soils from Nemea, Greece. *Bulletin of the Geological Society of Greece*. 2192-2199.
- Kisić, I. (2016). Antropogena erozija tla. *Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu*, str. 273: 128-130.
- Komárek M., Száková J., Rohošková M., Javorská H., Chrastný V., Balík J. (2008). Copper contamination of vineyard soils from small wine producers: A case study from the Czech Republic. *Geoderma*. 16-22.
- Mackie K. A., Müller T., Kandeler E. (2012). Remediation of copper in vineyards – A mini review. *Environmental Pollution*. 167:16-26.
- Mackie, K. A., Muller, T., Zikeli, S., Kandeler, E. (2013). Long-term copper application in an organic vineyard modifies spatial distribution of soil micro-organisms. *Soil Biology and Biochemistry*. 65:245-253.
- Mirleana N., Roisenberg A., Chie J. O. (2007). Metal contamination of vineyard soils in wet subtropics (Southern Brazil). *Environmental Pollution*,. 10-17.
- Panagos P., Ballabio C., Lugato E., Jones A., Borrelli P., Scarpa S., Orgiazzi A., Montanarella L. (2018). Potential Sources of Anthropogenic Copper Inputs to European Agricultural Soils. *Sustainability*. 1-17.
- Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 71/2019)
- Romić M., Matijević L., Bakić L., Romić D. (2014). Copper Accumulation in Vineyard Soils: Distribution, Fractionation and Bioavailability Assessment. U: Hernandez-Soriano M. C. *Environmental Risk Assessment of Soil Contamination*. InTech, Rijeka. 799-825.
- Romić M., Romić D., Dolanjski D., Stričević, I. (2004). Heavy Metals Accumulation in Topsoils from the Wine-growing Regions Part 1. Factors which Control Retention. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 1-10.
- Rusjan D., Strlič M., Pucko D., Korošec-Koruza Z. (2007). Copper accumulation regarding the soil characteristics in Sub-Mediterranean vineyards of Slovenia. *Geoderma*, 111-118.
- Shi J., Wu Q., Zheng C., Yang J. (2018). The interaction between particulate organic matter and copper, zinc in paddy soil. *Environmental Pollution*. 243: 1394-1402.
- Škorić (1982). *Priručnik za pedološka istraživanja*, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet poljoprivrednih znanosti, Zagreb, Hrvatska: Birotehnika
- Van Der Perk M., Jetten V., Heskens E., Segers M., Wijntjens I. (2004). Transport and retention of copper fungicides in vineyards. In: (Proceedings of a symposium held in Moscow. August 2004). (Goloso V., Belyaev V. i Walling D.E.). IAHS Publication, Moscow. 288: 437-443.
- Vavoulidou, E., Avramides, E.J., Papadopoulus, P., Dimirkou, A., Charoulis, A., Konstantinidou-Doltsinis, S. (2005). Copper content in agricultural soils related to cropping systems in different regions of Greece. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 36: 759–773.
- Vitanović E., Vidaček Ž., Katalinić M., Kačić S., Miloš B. (2010). Copper in surface layer of Croatian vineyard soil. *Journal of Agriculture and Environment*. Vol 8(1): 268-274.

## Effects of fungicides application and slope on the spatial copper distribution in agricultural soils

### Abstract

Numerous studies indicate that long-term application of copper-based fungicides causes contamination of agricultural soils with this metal. The aim of this study was to determine the influence of hillside inclination and different soil use on the spatial accumulation of copper (Cu) in agricultural soils. The research was conducted in October 2019 in northwestern Croatia on an area located on the same hillside that includes: two vineyards, arable land, and a meadow. In average soil samples (0-10 cm) Cu content in three replication was determined by the AAS method. The results reveal that hillside inclination contributed to the variability of copper in the soil, which decreased significantly from the top of the hillside where the vineyards are located to the bottom where The meadow is situated. The results additionally indicate that erosion had an impact on the copper content in the cropland due to its location which is immediately situated on the slope below the vineyard. Results from both vineyards revealed that Cu content (135-272 mg kg<sup>-1</sup>) were above the threshold level according to Croatian legislation (Official Gazette: 120 mg kg<sup>-1</sup>), while Cu content in grassland and arable cropland (40.1-82.0 mg kg<sup>-1</sup>) were under permissible level. In addition, results also revealed that significantly higher Cu values were recorded in a vineyard with grass-covered topsoil (245 mg kg<sup>-1</sup>) than in freshly tilled vineyard (140 mg kg<sup>-1</sup>), which is partly caused by the higher organic matter content in the grass-covered vineyard.

**Keywords:** vineyard, pollution by copper, arable land, meadow

## Potencijalna primjena pročišćene otpadne vode iz EL-TO Zagreb u poljoprivredi

Brigita Popović<sup>1</sup>, Mirna Habuda-Stanić<sup>2</sup>, Ante Bubalo<sup>1</sup>, Đurđica Kovačić<sup>1</sup>, Vladimir Zebec<sup>1</sup>, Anamarija Dellavia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (bpopovic@fazos.hr)

<sup>2</sup>Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Franje Kuhača 18, Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>HEP Proizvodnja d.o.o., Ulica grada Vukovara 37, 10000 Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Klimatske promjene i oskudica vode uvelike utječu na suvremenu poljoprivrednu proizvodnju. Poljoprivredni proizvođači moraju se prilagoditi i pronaći nove alate i rješenja kako bi osigurali stabilnu proizvodnju, a jedna od najvažniji agrotehničkih mjera u tom pogledu jest navodnjavanje, pri čemu se upotreba otpadnih voda u tu svrhu javlja kao jedno od rješenja. Pročišćivanjem otpadnih voda se postiže sanacija i uklanjanje teških metala te na taj način dolazi do ublažavanja ili sprječavanja štetnoga utjecaja na zdravlje tla i čovjeka. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi sadržaj teških metala u otpadnoj vodi iz toplinskog pogona EL-TO Zagreb nakon postupka pročišćavanja kako bi se procijenio potencijal otpadne vode za upotrebu u navodnjavanju poljoprivrednih kultura Republike Hrvatske. Nakon procesa pročišćavanja otpadnih voda u pogonu EL-TO Zagreb utvrđene su vrijednosti kemijskih svojstava vode koje ukazuju da je voda bila unutar granica propisanih Pravilnikom o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda i prosječno su se kretale u nizu  $Hg < As < Cd = Cr < Cu = Zn = Ni = Pb$  (0,001- 0,06 mg l<sup>-1</sup>).

**Ključne riječi:** toplinski pogon, otpadna voda, teški metali, navodnjavanje

### Uvod

Navodnjavanje poljoprivrednih površina jedna je od ključnih melioracijskih mjera koja može osigurati održavanje i/ili povećanje razine prinosa poljoprivrednih kultura u Republici Hrvatskoj (RH), a u novije vrijeme se svrstava i u nužne mjere uslijed posljedica klimatskih promjena koje nepovoljno utječu na poljoprivredni sektor. Poljoprivredni proizvođači moraju se prilagoditi i pronaći nove alate i rješenja kako bi osigurali stabilnu proizvodnju pri čemu upotreba otpadnih voda (OV) u svrhu navodnjavanja predstavlja jedno od mogućih rješenja (Klingbeil i Todd, 2018.). No, korištenje OV u poljoprivrednoj proizvodnji dolazi s nizom rizika budući da mogu biti kontaminirane brojnim polutantima kao što su primjerice teški metali (TM). TM biljke potencijalno mogu apsorbirati kroz tlo te se na taj način navedeni zagađivači mogu prenijeti u lanac ljudske prehrane. Naime, poznato je da TM mogu imati ozbiljne štetne učinke na ljudsko zdravlje i da predstavljaju prepreku i ozbiljan izazov u navodnjavanju poljoprivrede OV (Dickin i sur., 2016.). Pročišćivanjem OV se postiže sanacija i djelomično uklanjanje TM te je na taj način moguće ublažiti ili spriječiti štetan utjecaj na zdravlje tla i čovjeka. Razvijen je niz metoda pomoću kojih je moguće ukloniti TM iz OV. Osim parametara koji značajno utječu na izbor metode za obradu OV (razina pH vrijednosti i koncentracija TM), izbor metode često je i ekonomski uvjetovan budući da pojedini sustavi i metode zahtijevaju značajna financijska ulaganja. Jedna od najčešće korištenih metoda za uklanjanje TM iz anorganske OV, jest kemijsko taloženje zbog svoje jednostavnosti i isplativosti (Barakat, 2010.). Prema uvidu u dostupna

istraživanja (FAO, 2016.), upotreba pročišćenih OV u poljoprivredi uobičajeni je način zbrinjavanja ovakve vrste otpada koji u većini slučajeva ima pozitivan efekt na plodnost tla. Pročišćena OV potencijalno je dobar izvor vode za navodnjavanje u poljoprivredi ako je sadržaj TM unutar granica propisanih standardima, a primarno se upotrebljava za navodnjavanje „alternativnih“ kultura te u područjima deficitarnim vodom (Shomar i sur., 2003., Van Rooijen i sur., 2010.). Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi pH vrijednost i sadržaj TM u OV iz termoenergetskog postrojenja HEP Proizvodnja Elektrana-Toplana (EL-TO) Zagreb nakon provedenog postupka pročišćavanja te odrediti njezin potencijal za upotrebu u navodnjavanju poljoprivrednih kultura u RH.

## Materijal i metode

Istraživanje je provedeno u certificiranom laboratoriju za analizu OV postrojenja EL-TO Zagreb tijekom 2018. i 2019. g. OV se u ovom pogonu pročišćuju kemijskim metodama taloženja, regeneracije i neutralizacije. Naime, onečišćene vode koje ulaze u proces pretežno su lužnate ( $\text{pH} > 13$ ) zbog visoke koncentracije natrijeve lužine (NaOH). Visoke koncentracije NaOH neutraliziraju se preko selektivnog anionskog filtera te se time, zajedno s postupkom ispiranja, snižava pH vrijednost vode do neutralne te takva voda više ne predstavlja problem s aspekta pH vrijednosti. Postrojenje za obradu OV obuhvaća dva bazena za taloženje ( $V=350 \text{ m}^3$ ) i pet bazena za neutralizaciju ( $V=500 \text{ m}^3$ ). Količina OV regenerirana anionskim filterima ispušta se u bazene za neutralizaciju. Cjelokupni postupak provodi se u tri faze pri čemu se voda iz prve faze (regeneracija anionskim filterima), kao i druge i treće faze (ispiranje vode) ispušta u bazene za neutralizaciju što u konačnici rezultira vodom s pH vrijednosti u rasponu između 6 i 8,5. Uzorkovanje OV provodilo se 4 puta godišnje (kvartalno) tijekom 2018. i 2019. g., s mjernog okna KMO jug i analizirano sukladno propisanim normama (EN 5667-14:2016) i to na način da se mjerio protok vode i uzorkovao kompozitni uzorak svakih sat vremena tijekom 24-satnog razdoblja. Analizom OV s mjernog okna određeni su sljedeći parametri: mjerodavni protok, sadržaj otopljenog kisika, pH, koncentracija TM, suhi ostatak, ukupna suspendirana tvar, vidljiva otpadna tvar, miris i boja. Provedena mjerenja obvezno je provoditi prema Zakonu o vodama (NN 66/19) i Pravilniku o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 80/13, 43/14, 27/15, 26/20). Uklanjanje TM iz OV provedeno je sukladno europskim standardiziranim normama za kemijsku analizu TM pri čemu su utvrđene koncentracije sljedećih TM: arsen (As) (EN 17378-2:2018), živa (Hg) (EN 12846:2012), kadmij (Cd), bakar (Cu), krom (Cr), olovo (Pb), nikal (Ni) i cink (Zn) (EN 17294-1:2008; EN 17294-2:2016). Sve vrijednosti su usklađene sa Zakonom o vodama (NN 66/19) i Pravilnikom o graničnim vrijednostima emisija OV (NN 80/13, 43/14, 27/15, 03/16, 26/20). Statistička obrada podataka provedena je u statističkom programu SAS 9.1.3. analizom varijance (ANOVA).

## Rezultati i rasprava

Nakon procesa pročišćavanja OV u pogonu EL-TO Zagreb utvrđene su vrijednosti kemijskih parametara vode koje ukazuju da je voda na mjernom oknu KMO jug bila unutar granica propisanih Pravilnikom o graničnim vrijednostima emisija OV (NN 80/13, 43/14, 27/15, 03/16, 26/20) (Tablica 1) a prosječno su se kretale u nizu  $\text{Hg} < \text{As} < \text{Cd} = \text{Cr} < \text{Cu} = \text{Zn} = \text{Ni} = \text{Pb}$ . Naime, u sva 4 mjerenja tijekom obje godine zabilježena je niska koncentracija svih analiziranih TM ( $0,001 - 0,06 \text{ mg l}^{-1}$ ) koje su u prosjeku bile i do 10 puta niže od onih propisanih Pravilnikom. Vrijednosti pH OV u obje godine istraživanja bile su unutar granica propisanih Pravilnikom (prosječno 7,65 - 7,76), ali je u 2019. g. utvrđena statistički značajna razlika u pH vrijednosti unutar kvartalnog uzorkovanja (Tablica 2). Slični rezultati potvrđeni su i u drugim istraživanjima (Trinh i sur., 2013.; Murray i Ray, 2010.; Ioppolo i sur., 2020.) u kojima su analizom OV Kine, Kenije i Indije utvrđene koncentracije TM u rasponu od

0.0001 do 0.015 mgL<sup>-1</sup> u nizu Cd<Hg<Ni<Cr<Pb te je zaključeno da je analizirana OV pogodna za navodnjavanje. Safi i sur. (2018.) upotrijebili su OV u proizvodnji krastavaca pri čemu su istraživali njen utjecaj na kemijski sastav tla i porast vegetativne mase krastavaca te su došli do zaključka kako upotreba OV nema negativnog učinka na kemijski sastav odnosno plodnost tla, te da je imala pozitivan efekt na porast vegetativne mase krastavaca.

Tablica 1. Granične vrijednosti emisija onečišćujućih tvari (TM, mgL<sup>-1</sup>) u OV

pH	Cu	Zn	Cr	Ni	Pb	Cd	As	Hg
6,5-9,5	0,5	2	0,5	0,5	0,5	0,1	0,1	0,01

Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija OV (NN 80/13, 43/14, 27/15, 03/16, 26/20).

Tablica 2. Kemijska svojstva pročišćene OV: pH i koncentracija TM (mgL<sup>-1</sup>)

godina		2018							
kvartalni uzorci	pH	Cu	Zn	Cr	Ni	Pb	Cd	As	Hg
I	7,90 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,001 a	0,001 a
II	7,70 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,004 a	0,001 a
III	7,30 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,001 a	0,001 a
IV	7,70 a	0,05 a	0,06 a	0,03 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,001 a	0,001 a
prosjeak	7,65	0,05	0,05	0,03	0,05	0,05	0,03	0,002	0,001
godina		2019							
kvartalni uzorci	pH	Cu	Zn	Cr	Ni	Pb	Cd	As	Hg
I	8,10 a	0,05 ab	0,05 a	0,03 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,001 ab	0,001 a
II	7,85 a	0,05 ab	0,05 a	0,03 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,007 a	0,001 a
III	7,30 b	0,08 a	0,05 a	0,03 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,001 ab	0,001 a
IV	7,80 ab	0,05 ab	0,06 a	0,03 a	0,05 a	0,05 a	0,03 a	0,001 ab	0,001 a
prosjeak	7,76	0,06	0,05	0,03	0,05	0,05	0,03	0,003	0,001

a,b vrijednosti označene istim slovom u koloni ne predstavljaju statistički značajnu razliku (LSD, Fisher, p<0,05)

Mendoza-Espinosa i sur. (2008.) u svome istraživanju navode kako upotreba sekundarno pročišćene OV nije imala negativan utjecaj na rast Cabernet Sauvignona i Merlota iako je bila lužnatija od kontrolne vode, štoviše, došlo je do povećanja relativne stope rasta biljaka. Također, viša pH vrijednost OV nije utjecala na kvalitetu proizvoda kao ni na sadržaj šećera u grožđu. Faouzi i sur. (2020.) u svome istraživanju ističu kako upotreba OV koja je zadovoljila sve sigurnosne parametre u Maroku nije imala negativan utjecaj na poljoprivrednu proizvodnju te je omogućila i stvaranje novih obradivih površina. Castro i sur. (2011.) u svome istraživanju ističu kako OV može biti izvor hraniva te ju je moguće koristiti za navodnjavanje u poljoprivredi bez negativnih utjecaja na plodnost tla i zdravlje ljudi, iako eventualni problem može predstavljati povećan sadržaj natrija.

Tablica 3. Utjecaj visoke koncentracije TM na zdravlje ljudi (Andlar, K., 2016.)

TM	Utjecaj na ljudsko zdravlje (akutni i kronični)
Cu	Iritacija očiju, nosa i usta, glavobolja, dijareja, oštećenja bubrega i smrt.
Zn	Oštećenja imunološkog sustava, trbušni problemi te uznemirenost.
Cd	Povraćanje, dijareja, utjecaj na respiratorni sustav, gubitak težine, smrt.
Pb	Anemija, gubitak apetita, sterilnost, povraćanje, oštećenja bubrega i živčanog sustava.
Cr	Alergijski dermatitis, iritacija respiratornog sustava, oštećenja bubrega i jetre, smrt.
Hg	Iritacije nosa i usta, oštećenja bubrega i pluća, utjecaj na živčani sustav i razvoj ploda, depresija.
Ni	Kronični bronhitis, utjecaj na živčani i imunološki sustav te jetru, alergijske reakcije.
As	Iritacija kože, probavu i živčani sustav, smanjena proizvodnja bijelih krvnih zrnaca.

Međutim, prema dostupnim podacima HRI (Heavy metals health Risk Index) je kod većine uzgajanih kultura u provedenim istraživanjima u granicama sigurnosti, izuzev špinata, mrkve i uljane repice kod kojih su utvrđene povećane razine Cd i Mn te stoga predstavljaju rizik za zdravlje ljudi. Eissa i Negim (2018.) u svome radu navode kako je navodnjavanje kanalizacijskom OV rezultiralo akumulacijom TM u jestivim dijelovima špinata i salate u kojima su dopuštene razine pojedinih TM (Pb, Cd i Ni) višestruko premašene te nisu bili sigurni za ljudsku konzumaciju (Tablica 3). Hussain i sur. (2019.) u svome radu navode kako se s upotrebom pročišćene OV povećavaju razine TM u biljkama i to redom Cr>Pb>Mn>Cu>Co>Cd, ali bez značajnijih rizika po ljudsko zdravlje. Istovremeno, konzumacija takvih biljaka ima veće vrijednosti DIM-a (Daily Intake of Metals) nego konzumacija biljaka koje su navodnjavane vodovodnom vodom što pročišćene OV čini opravdanim resursom u navodnjavanju poljoprivrednih kultura.

## Zaključak

Metode uklanjanja zagađivača iz OV pogona EL-TO Zagreb rezultirale su pročišćenom OV s niskom koncentracijom TM i povoljnom pH vrijednosti. Statistička analiza pokazuje stabilnost u primjenjenoj analitici te da ne postoje statistički značajne razlike u analiziranim svojstvima pročišćene OV. S obzirom da se u RH navodnjava svega 2,5 % poljoprivrednih površina, pročišćena OV ima potencijal u navodnjavanju poljoprivrednih kultura u RH pri čemu se, osim navedenog, mora voditi računa i o mikrobiloškoj ispravnosti OV kao i o ekonomskoj isplativosti dopremanja OV do poljoprivrednih površina.

## Literatura

- Barakat M. A. (2010). New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian journal of chemistry* Vol (4). 4: 361-377.
- Castro, E., Mañas, M.P., De Las Heras, J. (2011.): Effects of wastewater irrigation on soil properties and turfgrass growth. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research*. Vol (63): 1678-1688.
- Dickin S. K., Schuster-Wallace C. J., Qadir M., Pizzacalla K. (2016). A Review of Health Risks and Pathways for Exposure to Wastewater Use in Agriculture. *Environmental Health Perspectives*. Vol (124). 7: 900-909.
- Eissa, M.A., Negim, O.E. (2018.): Heavy metals uptake and translocation by lettuce and spinach grown on a metal-contaminated soil. *Journal of soil science and plant nutrition*. Vol (18). 4. 1097-1107.
- FAO (2016): Wastewater treatment and reuse un agriculture
- Faouzi, E., Arioua, A., Karaoui, I., Ait Ouhamchich, K., Elhamdouni, D. (2020.): Wastewater reuse in agriculture sector: resources management and adaptation in the context of climate change: case study of the Beni Mellal-Khenifra region, Morocco. *E3S Web of Conferences* . Vol (183): 2-5.
- HRN EN 12846 (2012): Kvaliteta vode - Određivanje Živa - SOP-22-053 Masena spektrometrija induktivno spregnute plazme (ICP-MS) European Committee for Standardization. Brussels, Belgium.
- HRN EN 17294-1 (2008): Kvaliteta vode - Određivanje teških metala Cd, Cu, Cr, Pb, Ni i Zn. EN 17294-2:2016 European Committee for Standardization. Brussels, Belgium.
- HRN EN 17378-2 (2018): Kvaliteta vode - Utvrđivanje arsena i antimonije. European Committee for Standardization. Brussels, Belgium.
- HRN EN 5667-14 (2016): Kvaliteta vode - Uzorkovanje - 14 dio: Upute za osiguravanje kvalitete i kontrolu kvalitete pri uzorkovanju i rukovanju uzorcima vode iz okoliša European standard EN 5667-14:2016. European Committee for Standardization. Brussels, Belgium.
- Hussain, A., Priyadarshi, M., Dubey, S. (2019.): Experimental study on accumulation of heavy metals in vegetables irrigated with treated wastewater. *Applied Water Science* 9:122.

- Ioppolo, A., Laudicina, V.A., Badalucco, L., Saiano, F. i Palazzolo, E. (2020): Wastewaters from citrus processing industry as natural biostimulants for soil microbial community. *Journal of Environmental Management* 273.
- Klingbeil D. F., Todd E. C. D. (2018). The Impact of Climate Change on Raw and Untreated Wastewater Use for Agriculture, Especially in Arid Regions: A Review. *Foodborne Pathogens and Disease* Vol (15), 2:61-72.
- Mendoza-Espinosa, L.G., Cabello-Pasini, A., Macias-Carranza, V., Daessle-Heuser, W., Orozco-Borbón, M.V., Quintanilla-Montoya, A.L. (2008.): The effect of reclaimed wastewater on the quality and growth of grapevines. *Water Science & Technology - WST: Vol (57). 9: 1445-1450.*
- Murray A., Ray, I. (2010): Wastewater for agriculture: A reuse-oriented planning model and its application in peri-urban China. *Water Research* 44, 1667-1679.
- Safi, M., J., Yassin, M., M., Safi, J., M. (2018): Evaluation of Soil Properties and Production of Cucumis sativus Irrigated with Treated Wastewater in Gaza Strip. *International Journal of Plant and Soil Science* Vol (21).5:1-12.
- Shomar, B., H., Muller, G., Yahya, A. (2003): Potential use of treated wastewater and sludge in the agricultural sector of the Gaza Strip. *Clean Technologies and Environmental Policy: 6(2):128-137.*
- Trinh, L.T., Duong, C. C., Van Der Steen, P., Lens, P. N. L. (2013): Exploring the potential for wastewater reuse in agriculture as a climate change adaptation measure for Can Tho City, Vietnam. *Agricultural Water Management* 128, 43-54.
- Van Rooijen D., J., Biggs, T., W., Smout, I., Drechel, P. (2010): Urban growth, wastewater production and use irrigated agriculture: a comparative study of Accra, Addis Abbaba and Hyderabad. *Irrigation Drainage Systems: 24:53-64.*
- Andlar K. (2016). Metode uklanjanja teških metala iz otpadnih voda. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:825616>.

## Potential usage of treated wastewater from EL-TO Zagreb in agriculture

### Abstract

Climate change and water deficit greatly affect modern agricultural production, and one of the most important agro-technical measures in this regard is irrigation, where the use of wastewater for this purpose appears as one of the solutions. Wastewater treatment achieves the remediation and removal of heavy metals, thus preventing harmful effects on soil and human health. The aim of this study was to determine the content of heavy metals in wastewater from the EL-TO Zagreb after the treatment process in order to assess the potential of wastewater for use in irrigation of agricultural crops in the Republic of Croatia. After the wastewater treatment process, the determined concentrations of heavy metals were within the limits prescribed by the Law and averaged in the range  $Hg < As < Cd = Cr < Cu = Zn = Ni = Pb$  (0.001-0.06 mg/l).

**Key words:** heating plant, wastewater, heavy metals, irrigation.

## Seed allelopathy between herbs and weed species

Marija Ravlić<sup>1</sup>, Renata Baličević<sup>1</sup>, Monika Marković<sup>1</sup>, Jelena Ravlić<sup>2</sup>, Matej Mijić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek, Croatia (mravlic@fazos.hr)*

<sup>2</sup>*PhD student, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek, Croatia*

### Abstract

The aim of the study was to evaluate allelopathic effect of herbs and weed seeds cogermination on germination and growth of weed species in two experiments. In Petri dish experiment, the highest reduction of germination was recorded in treatment with lovage seeds with decrease in redroot pigweed and black nightshade germination by 93.6 and 69.7%, respectively. Both positive and negative effects were observed on root and shoot length of weed seedlings, while lovage seeds had the greatest impact on the reduction of fresh weight. Allelopathic effect was less pronounced in the experiment with pots. The greatest negative effect was recorded for root length of Johnson grass with the reduction of 38.5% in treatment with basil seeds. On average, redroot pigweed and hoary cress proved to be the most susceptible weeds in Petri dish experiment, however overall, the degree of allelopathic potential depended on both donor and acceptor species.

**Key words:** allelopathy, cogermination, seedlings length, aromatic and medicinal plants

### Introduction

Allelochemicals, the chemical substances released from plants, are responsible for plant interactions, a phenomenon known as allelopathy (Rice, 1984). Allelochemicals are present in various plant parts including roots, stems, leaves, flowers, bark, buds, pollen, fruits and seeds (Rice, 1984, Alam et al., 2001). Numerous compounds, such as lactones, phenolic compounds, flavonoids, and tannins can be present in plant seeds in relatively high concentrations (Putnam and Tang, 1986). The excretion of these compounds in the soil inhibits germination and growth of neighboring seeds (Rice, 1984, Ferreira et al., 2018).

Seed allelopathy has been documented between both crops and weeds. Phytotoxic effects of seed and seedlings leachates of rotational crops such as barley, wheat and lupine on germination and radicle length of other crops was reported by Ferreira et al. (2018). Guido et al. (2017) emphasized the importance of seed to seed effects between native and invasive species for understanding invasion success. Several authors recorded allelopathic potential of aromatic and medicinal plant seeds (Đikić, 2004, 2005a, 2005b, Ravlić, 2015, Baličević et al., 2015), as well as grain crops such as rye, oat, barley, wheat (Šarić et al., 1992) and sorghum (Hoffman et al., 1996) against germination and growth of various weeds species. Considering the latter, allelopathy can be exploited as alternative method in weed control in order to reduce constant herbicide use and consequently negative effects such as evolution of weed resistance, environmental pollution and adverse effects on human and animal health (Baretto et al., 2000, Ferreira et al., 2018).

The aim of the paper was to assess effect of seed allelopathy between herbs and weeds through seed cogermination on germination and growth of weed species.



## Material and methods

The study was conducted in the Laboratory of Phytopharmacy at the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek.

Seeds of herbs, namely basil (*Ocimum basilicum* L.), chamomile (*Matricaria chamomilla* L.), lovage (*Levisticum officinale* Koch) and lemon balm (*Melissa officinalis* L.) were purchased from seed company. Seeds of weed species velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Med.), hoary cress (*Lepidium draba* L.) and Johnson grass (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) were collected from agricultural fields in Osijek-Baranja County, while seeds of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) and black nightshade (*Solanum nigrum* L.) were purchased from seed company Herbiseed (UK). The collected seeds were cleaned, dried and stored in paper bags until use.

Allelopathic effect of herbs and weed seed cogermination on germination and growth of weed species was assessed through two experiments. In the first experiment, seed cogermination was studied in Petri dishes according to Đikić (2005b). Each treatment consisted of 30 seeds of herbs and 30 seeds of weeds germinating together in Petri dishes on filter paper moistened with distilled water. The control treatment consisted of 30 weed seeds per Petri dish. In the second experiment, seed cogermination was studied in pots with soil according to modified method of Hoffman et al. (1996). Each treatment consisted of 30 seeds of herbs and 30 seeds of weeds sown in pots filled with soil (commercial substrate). The control treatment consisted of 30 weed seeds per pot.

Both experiments were set up as completely randomized design. All treatments in both experiments had four replications and both experiments were repeated. Petri dish and pot experiments were kept at room temperature ( $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) on laboratory benches for 9 and 14 days, respectively. At the end of experiments, germination/emergence percentage was calculated, and seedling root and shoot length (cm) and fresh weight (mg) were measured. The collected data were analysed statistically with ANOVA and differences between treatment means were compared using the LSD-test at probability level of 0.05.

## Results and discussion

Herbs and weed seed cogermination showed different allelopathic effect on weed seed germination and seedlings growth in Petri dish experiment (Table 1). Seed germination of redroot pigweed and hoary cress was significantly reduced by 93.6 and 34.1% in treatment with lovage seeds, respectively. Similarly, significant reduction of black nightshade germination from 19.9 to 69.7% was recorded in all treatments, except with chamomile seeds. Root length of redroot pigweed and black nightshade was significantly decreased in cogermination with lovage, as well as root length of Johnson grass in treatment with lemon balm. Stimulation of velvetleaf root length was observed with lovage and lemon balm seeds, on average for 15.6%, while hoary cress cogermination with basil and chamomile seeds resulted in even greater root length elongation of 37.5 and 25%, respectively. Negative effect of seed cogermination was less pronounced on shoot length of weed seedlings. The greatest reduction of shoot length was recorded for hoary cress in treatment with lovage seeds and amounted to 57.1%. Fresh weight of all weed seedlings, except of velvetleaf, was reduced in cogermination with lovage from 22.5 to 50.7%. Basil, lovage and lemon balm seeds stimulated significantly fresh weight of velvetleaf seedlings.

Results of other studies also reported different allelopathic potential of crop seeds on weed germination and growth. According to Đikić (2005a) seeds of aromatic plants from Apiaceae

family such as caraway (*Carum carvi* L.), dill (*Anethum graveolens* L.) and coriander (*Coriandrum sativum* L.) significantly decreased germination and fresh weight of various weeds. Baličević et al. (2015) found that lovage seeds decreased germination of scentless mayweed (*Tripleurosperum inodorum* (L.) C.H. Schultz) by 32.2%. Essential oils and their components are reported to possess allelopathic potential (Dudai et al., 1999, Sarić-Krsmanović et al., 2019) which may have contributed to greater allelopathic effect of lovage seeds.

Table 1. Allelopathic effect of seed cogermination on germination and seedling growth of weed species in Petri dish experiment

Treatment	<i>A. theophrasti</i>	<i>A. retroflexus</i>	<i>L. draba</i>	<i>S. nigrum</i>	<i>S. halepense</i>
Germination (%)					
Control	55.4 a	58.3 ab	73.3 a	55.3 a	25.3 ab
Basil	58.8 a	59.2 a	70.0 a	44.3 bc	27.0 a
Chamomile	53.3 a	50.8 b	77.1 a	52.3 ab	19.3 b
Lovage	60.4 a	3.8 c	48.3 b	16.8 d	20.8 ab
Lemon balm	61.3 a	55.0 ab	67.9 a	41.5 c	20.5 ab
Root length (cm)					
Control	4.8 b	3.9 a	1.6 bc	3.1 a	4.1 a
Basil	4.8 b	3.9 a	2.2 a	3.1 a	4.1 a
Chamomile	4.8 b	3.8 a	2.0 a	2.9 a	3.6 ab
Lovage	5.6 a	1.7 b	1.2 c	1.9 b	3.9 a
Lemon balm	5.5 a	4.1 a	1.8 ab	3.2 a	3.2 b
Shoot length (cm)					
Control	4.6 bc	2.3 bc	2.1 a	1.3 a	5.9 a
Basil	4.6 bc	3.1 a	2.0 a	1.5 a	5.9 a
Chamomile	4.3 c	2.4 bc	1.9 a	1.4 a	5.5 a
Lovage	4.8 b	2.1 c	0.9 b	1.3 a	4.6 b
Lemon balm	5.1 a	2.9 ab	2.1 a	1.6 a	5.2 ab
Fresh weight (mg)					
Control	50.0 b	5.5 ab	12.9 a	8.9 a	18.9 a
Basil	54.6 a	5.9 a	11.8 b	8.1 a	18.5 a
Chamomile	43.0 c	4.7 ab	12.1 ab	7.3 ab	17.9 a
Lovage	55.0 a	2.7 c	7.4 c	6.1 b	14.7 b
Lemon balm	56.4 a	5.3 ab	12.0 ab	9.2 a	14.6 b

a,b,c - means followed by the same letter within the column are not significantly different at  $P < 0.05$ .

Cogermination of herbs and weed seeds in pots with soil significantly reduced only emergence of redroot pigweed in treatment with basil by 17.9% (Table 2). Root length of black nightshade was reduced in both treatments by 14.3 and 19%, respectively, while root length of hoary cress was decreased with chamomile seeds by 26.1% and Johnson grass with basil seeds by 38.5%. Shoot length of weed seedlings was not affected. Significant negative effect on weed seedlings fresh weight was recorded only for hoary cress. Baličević et al. (2015) reported positive effect of chamomile and basil seeds on shoot length and fresh weight of scentless mayweed.

Results obtained from experiment in Petri dishes differed from the results in pots with soil. For example, germination of black nightshade seeds was significantly reduced for 20% in treatment with basil when seeds cogerminated in Petri dishes, while in pots with soil emergence was not affected. Similarly, higher negative effect on redroot pigweed emergence in pots with soil was recorded as oppose to germination on filter paper. Đikić (2004) also reported greater reduction in hoary cress germination in treatment with caraway on filter paper compared to pot experiment. Contrary, according to Wardle et al. (1991) allelochemicals had higher negative effect in soil. Hoffman et al. (1996) however pointed

out that competition, along with allelopathy, could be the cause of stronger negative effect in cogermination studies in soil. Seed density also affects the degree of allelopathic potential. Lower seed density of acceptor plants means that greater concentration of allelochemicals is received per plant and therefore greater allelopathic potential is achieved (Aguilar-Franco et al., 2019).

Table 2. Allelopathic effect of seed cogermination on germination and seedling growth of weed species in pots with soil

Treatment	<i>A. theophrasti</i>	<i>A. retroflexus</i>	<i>L. draba</i>	<i>S. nigrum</i>	<i>S. halepense</i>
Emergence (%)					
Control	66.7 ab	74.2 a	38.3 a	63.8 a	17.9 a
Basil	60.9 b	60.8 b	35.8 a	64.0 a	17.5 a
Chamomile	70.8 a	67.1 ab	32.1 a	55.5 a	19.5 a
Root length (cm)					
Control	5.0 a	2.3 a	2.3 a	2.1 a	3.9 a
Basil	4.9 a	2.6 a	2.4 a	1.8 b	2.4 b
Chamomile	5.0 a	2.4 a	1.7 b	1.7 b	3.1 ab
Shoot length (cm)					
Control	9.7 a	4.7 ab	3.9 a	3.9 a	8.9 a
Basil	9.2 a	4.8 a	4.1 a	4.2 a	8.8 a
Chamomile	9.8 a	4.6 b	3.9 a	4.0 a	9.5 a
Fresh weight (mg)					
Control	96.9 a	8.1 a	20.9 a	16.8 a	25.9 a
Basil	96.1 a	8.0 a	18.7 b	15.5 a	25.8 a
Chamomile	96.8 a	7.5 a	18.2 b	17.2 a	28.5 a

a,b,c - means followed by the same letter within the column are not significantly different at  $P < 0.05$ .

## Conclusions

Seed allelopathic potential of all investigated herbs showed negative or positive effect on germination and growth of weed species, but was dependent on both donor and recipient plant as well as media on which the seed cogerminated. On average, redroot pigweed and hoary cress proved to be the most susceptible weeds in Petri dish experiment. Overall, seed allelopathic potential was more pronounced on filter paper compared to pot experiment.

## References

- Aguilar-Franco, Z. M., Flores-Palacios, A., Flores-Morales, A., Perea-Arango, I., Arellano-García, J. J., Valencia-Díaz, S. (2019). Density-dependent effect of allelopathy on germination and seedling emergence in two *Ipomoea* species. *Revista Chilena de Historia Natural*, 92: 7.
- Alam, S. M., Ala, S. A., Azmi, A. R., Khan, M. A., Ansari, R. (2001). Allelopathy and its role in agriculture. *Journal of Biological Sciences*, 1(5): 308-315.
- Baličević, R., Ravlić, M., Ravlić, I. (2015). Allelopathic effect of aromatic and medicinal plants on *Tripleurospermum inodorum* (L.) C.H. Schultz. *Herbologia*, 15(2): 40-53.
- Barreto, R., Charudattan, R., Pomella, A., Hanada, R. (2000). Biological control of neotropical aquatic weeds with fungi. *Crop Protection*, 19: 697-703.
- Dudai, N., Poljakoff-Mayber, A., Mayer, A.M., Putievski, E., Lerner, H. R. (1999). Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. *Journal of Chemical Ecology*, 25(5): 1079-1089.
- Đikić, M. (2004). Alelopatski utjecaj aromatičnog, ljekovitog i krmnog bilja na klijanje, nicanje i rast korova i usjeva. Doctoral thesis, University of Sarajevo, Faculty of Agriculture, Sarajevo.
- Đikić, M. (2005a). Allelopathic effect of aromatic and medicinal plants on the seed germination of *Galinsoga parviflora*, *Echinochloa crus-galli* and *Galium molugo*. *Herbologia*, 6(3): 51-57.

- Dikić, M. (2005b). Allelopathic effect of cogermination of aromatic and medicinal plants and weed seeds. *Herbologia*, 6(1): 15-24.
- Ferreira, M.I., Reinhardt, C. F., Van der Rijst, M. (2018). Assessment of the allelopathic effects of seeds and seedlings of rotational crops and ryegrass. *African Journal of Plant Science*, 12(11): 309-318.
- Guido, A., Hoss, D., Pillar, V. D. (2017). Exploring seed to seed effects for understanding invasive species success. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 15(3): 234-238.
- Hoffman, M. L., Weston, L. A., Snyder, J. C., Regnier, E. E. (1996). Allelopathic influence of germinating seeds and seedlings of cover crops on weed species. *Weed Science*, 44: 579-584.
- Putnam, A. R., Tang, C. S. (1986). Allelopathy: state of science. In: *The Science of Allelopathy*. Putnam, A.R., Tang, C.S. (eds). John Wiley & Sons, New York, USA. pp. 43-56.
- Ravlić, M. (2015). Alelopatsko djelovanje nekih biljnih vrsta na rast i razvoj usjeva i korova. Doctoral thesis, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Osijek.
- Rice, E. L. (1984). *Allelopathy*. 2nd Edition, Academic Press, New York.
- Sarić-Krsmanović, M., Gajić Umiljendić, J., Radivojević, Lj., Šantrić, Lj., Potočnik, I., Đurović-Peješev R. (2019). Bio-herbicidal effects of five essential oils on germination and early seedling growth of velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medik.). *Journal of Environmental Science and Health. Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 54(4): 247-251.
- Šarić, T., Leather, G. R., Kačar, G., Salatić, J., Đikić, M., Bulić, D. (1992). Allelopathic effect of crops on some weed species. *Radovi Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Sarajevu*, 50(44): 35-43.
- Wardle, D. A., Ahmed, M., Nicholson, K.S. (1991). Allelopathic influence of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) seeds on germination and radicle growth of pasture plants. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 34(2), 185-191.

## Alelopatske interakcije među sjemenom ljekovitih i aromatičnih biljaka i korovnih vrsta

### Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi alelopatski utjecaj zajedničkog klijanja sjemena ljekovitog i aromatičnog bilja i sjemena korova na klijavost i rast korovnih vrsta u dva pokusa. U pokusu u Petrijevim zdjelicama, najveće smanjenje klijavosti zabilježeno je u tretmanu sa sjemenkama ljupčaca gdje je smanjenje klijavosti oštrodakavog šćira i crne pomoćnice iznosilo za 93,6 % i 69,7 %. Zabilježen je pozitivan i negativan utjecaj na duljinu korijena i izdanka klijanaca korova, dok je sjeme ljupčaca imalo najveći utjecaj na smanjenje svježe mase. Alelopatski utjecaj bio je manje izražen u pokusima u posudama s tlom. Najveći negativni utjecaj zabilježen je na duljini korijena divljeg sirka sa smanjenjem od 38,5 % u tretmanu sa sjemenom bosiljka. U prosjeku, oštrodakavi šćir i strjeličasta grbica pokazale su se kao najosjetljivije korovne vrste u pokusu u Petrijevim zdjelicama, no sveukupno alelopatski potencijal ovisio je o biljci donoru i primatelju.

**Ključne riječi:** alelopatija, zajedničko klijanje, duljina klijanaca, aromatične i ljekovite biljke

## Utjecaj uklanjanja organske tvari tla na analizu mehaničkog sastava slabo humoznih praškasto ilovastih uzoraka

Vedran Rubinić, Ana Marija Krajnik, Ivan Magdić

*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska  
(vrubinic@agr.hr); koautorica A.M. Krajnik je bivša studentica Ms studija Agroekologija*

### Sažetak

Pri analizi mehaničkog sastava tla (MST) se, zbog bolje dezagregacije uzorka, često uklanja organska tvar (OT), što komplicira, poskupljuje i produžuje postupak. Istražen je učinak spaljivanja OT vodikovim peroksidom na rezultate analize MST 20 slabo humoznih, praškasto ilovastih uzoraka. Frakcije pijeska izdvojene su mokrim prosijavanjem, a praha i gline pipetiranjem. Obzirom na primjenu/izostanak uklanjanja OT, utvrđene su razlike u udjelima svih frakcija. Međutim, one su za prah, kao dominantnu frakciju, bile zanemarive te nisu utjecale na teksturnu klasu tla (prosječni udjeli sa i bez uklanjanja OT bili su redom 73,7 % i 75,4 %). Izostavljanje uklanjanja OT u ovakvim tlima može biti opravdano ako se ne zahtijeva visoka točnost analize MST, već prvenstveno određivanje teksturne klase.

**Ključne riječi:** granulometrijski sastav tla, spaljivanje organske tvari tla, vodikov peroksid, dezagregacija tla, pipet metoda

### Uvod

Granulometrijski ili mehanički sastav tla (MST), kao kvantitativni odnos mehaničkih elemenata različitih veličina (pijesak, prah, glina), određuje teksturnu oznaku tla te predstavlja jednu od ključnih značajki tla. O MST ovise poroznost i struktura tla, kapacitet i propusnost tla za vodu, kapacitet tla za zrak, sadržaj hranjiva u tlu, te brojna druga svojstva (Pernar, 2017.). Mehanički elementi se sljepljuju u agregate, i to pomoću organske tvari (OT), oksida, topivih soli i karbonata (Gasparotto i sur., 2003). Obzirom na navedeno, pri laboratorijskoj analizi MST se uzorak prvo mora dezagregirati, tj. dispergirati na primarne čestice, što se postiže kombiniranjem različitih kemijskih i mehaničkih tretmana (Gee i Bauder, 1986.). Prije dezagregacije, preporuča se iz uzorka ukloniti eventualno prisutne agregirajuće komponente tla (HRN ISO 11277:2011, 2011.). Pritom se za uklanjanje OT u pravilu koristi mokro spaljivanje pomoću vodikovog peroksida ( $H_2O_2$ ).

Uklanjanjem OT iz uzoraka tla, povećava se korištenje agresivnih kemikalija te se komplicira, poskupljuje i produžuje analiza MST (Gasparotto i sur., 2003). Nadalje, tretmani s  $H_2O_2$  su često nepotpuno učinkoviti te mogu uništiti pojedine minerale tla (Mikutta i sur., 2005.). Razni autori su istraživali utjecaj OT na analizu MST (Shein i sur., 2006., Di Stefano i sur. 2010., Perković i sur., 2013., Makó i sur., 2017.). Neki su zabilježili da taj utjecaj raste tek s porastom sadržaja OT u tlu (Gasparotto i sur., 2003.). Cilj ovog rada je utvrditi postoje li bitne razlike u udjelima mehaničkih čestica slabo humoznih tala, obzirom na provođenje ili izostavljanje uklanjanja OT iz uzorka. Željelo se utvrditi i da li predtretman s  $H_2O_2$  utječe na teksturnu oznaku tla. Kako poljoprivredna tla nerijetko imaju niski sadržaj OT (Haghighi i sur., 2010.), pojednostavljeni postupak analize MST mogao bi biti široko primjenjiv. Analizirani su uzorci praškasto ilovastih tala, kao široko zastupljenih u agroekosustavima Hrvatske.

## Materijal i metode

Analiziran je MST 20 uzoraka praškasto ilovastih tala s 1-3% humusa, uzetih iz arhive Zavoda za pedologiju Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Svi su uzorci bili arhivirani kao zrakosuhi, nakon prosijavanja kroz sito otvora 2 mm. Svaki uzorak je analiziran bez i sa uklanjanjem OT. Organska tvar je spaljivana prelijevanjem 20 g tla s 30 mL vode i 30 mL 30% otopine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, uz zagrijavanje i miješanje uzorka na električnoj ploči sljedećeg dana, sve do prestanka pjenjenja uzorka. Navedena procedura, kao i cjelokupna analiza MST, provedena je u skladu s HRN ISO 11277:2011 (2011.). Kao disperzijsko sredstvo korištena je otopina natrijevog heksametafosfata (Na(PO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>) i natrijevog karbonata (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Izdvajanje mehaničkih frakcija tla rađeno je mokrim prosijavanjem za krupni i sitni pijesak (čestice veličina 2,0-0,2 mm i 0,2-0,063 mm), odnosno pipetiranjem nakon propisanog vremena sedimentacije za sitni prah (0,02-0,002 mm) i glinu (<0,002 mm). Sadržaj krupnog praha (0,063-0,02 mm) izračunat je temeljem sadržaja ostalih frakcija. U ovom su radu obrađeni samo rezultati vezani za temeljne frakcije MST: ukupni pijesak, ukupni prah i glinu. Teksturna klasa tla određena je prema trokutu FAO (2006.). Statistička obrada rezultata napravljena je u programu *MS Excel*. Osim deskriptivne statistike, korišten je i *t*-test za zavisne uzorke. Pored *t* vrijednosti, izračunata je i *p* vrijednost.

## Rezultati i rasprava

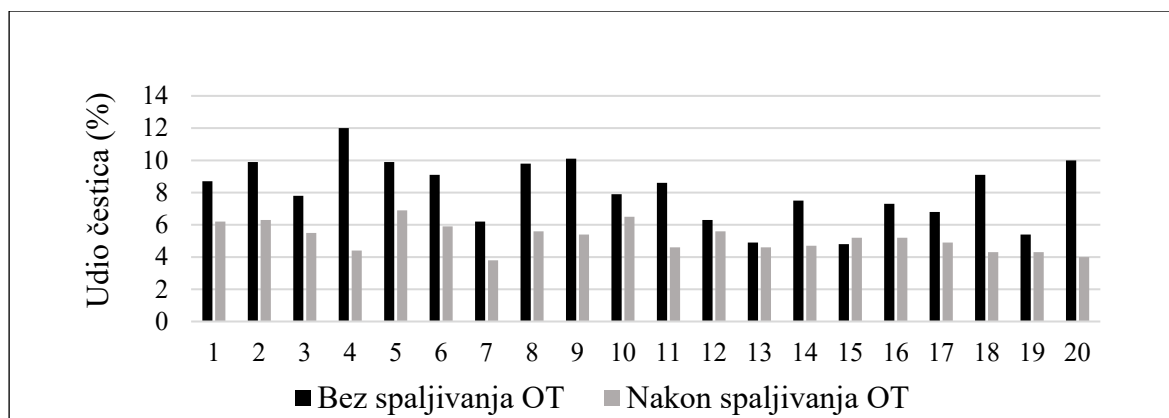
Bez spaljivanja OT, sadržaji pijeska i praha bili su prosječno veći (redom za 2,9 % i 1,7 %), a sadržaj gline prosječno manji (za 4,7%), nego sa spaljivanjem (Tablica 1). Pojedinačna odstupanja od ove pravilnosti zabilježena su u slučaju praha za četiri uzorka (Grafikon 2, uzorci 4, 5, 7, 19), a u slučaju pijeska za jedan (Grafikon 1, uzorak 15). Drugi autori su, nakon izostavljanja spaljivanja OT, također zabilježili precijenjene udjele gline (Gasparotto i sur., 2003; Jensen i sur., 2017.). Perković i sur. (2013.) su, analizom MST prema metodi koja ne uključuje spaljivanje OT u odnosu na onu koja ju uključuje, utvrdili više pijeska. Jensen i sur. (2017.) analizom MST bez uklanjanja OT zabilježili precijenjeni sadržaj praha, posebno u tlima s većim udjelom sitnih čestica.

Tablica 1. Deskriptivna statistika mehaničkog sastava tla (N=20) bez i nakon spaljivanja organske tvari tla (OT) vodikovim peroksidom (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

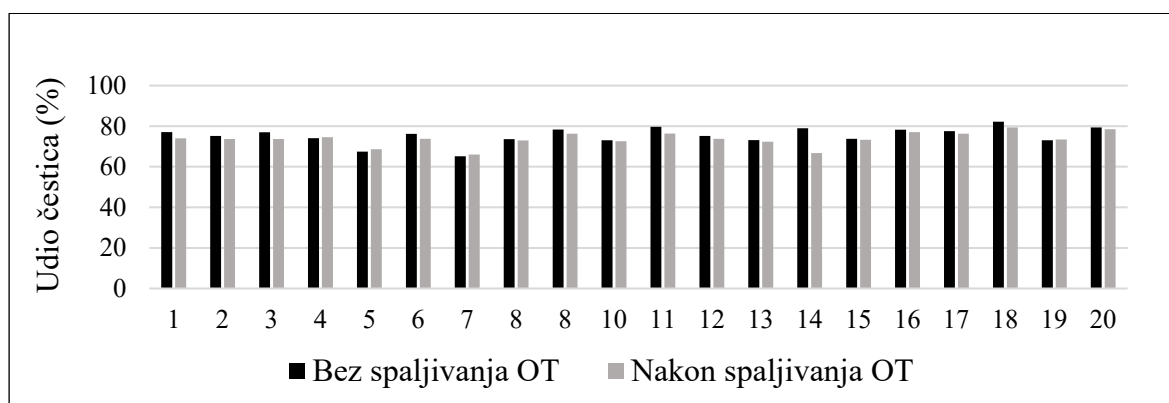
Statistički parametar	Pijesak (2-0,063 mm)	Prah (0,063-0,002 mm)	Glina (<0,002 mm)
	%		
Bez spaljivanja OT			
Minimum	4,8	65,2	8,7
Maksimum	15,3	89,2	28,6
Stand. dev.	4,0	7,8	5,4
Prosjek	8,1	75,4	16,5
Nakon spaljivanja OT			
Minimum	3,8	66,1	16,3
Maksimum	6,9	79,4	30,1
Stand. dev.	0,9	3,4	3,4
Prosjek	5,2	73,7	21,2

Iako su razlike obzirom na tretman spaljivanja OT bile signifikantne za sve tri mehaničke frakcije (Tablica 3), razina signifikantnosti bila je niža za prah ( $p < 0,05$ ), nego za preostale dvije frakcije ( $P < 0,01$ ). To je u skladu s činjenicom da je prosječni sadržaj praha, obzirom na izostavljanje ili provođenje spaljivanja OT, zapravo bio vrlo sličan (redom 75,4% i

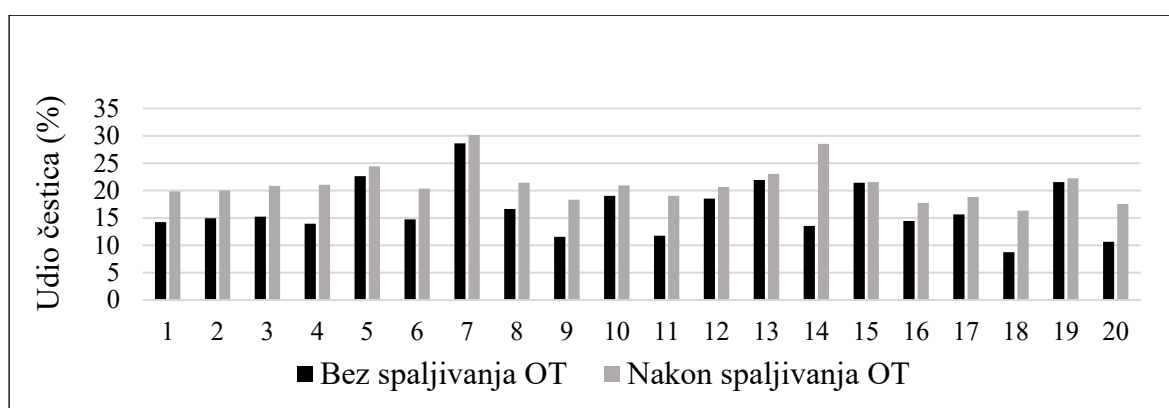
73,7%). Generalno, dobiveni rezultati su očekivani i većinom u skladu s onima drugih autora. Naime, uklanjanjem OT iz tla, omogućuje se temeljitija disperzija uzorka, odnosno oslobađanje većeg udjela čestica gline iz mikroagregata tla, čijim se raspadanjem izbjegava precjenjivanje udjela frakcije pijeska. Ipak, treba naglasiti da pojedini istraživači (npr., Shein i sur., 2006.; Di Stefano i sur., 2010.) nisu, u ovisnosti o primjeni ili izostavljanju spaljivanja OT, utvrdili postojanje statistički značajne razlike u udjelima praha i gline.



Grafikon 1. Postotni udjeli ukupnog pijeska (čestice 2-0,063 mm) u 20 uzoraka tla analiziranih bez/nakon spaljivanja organske tvari (OT) vodikovim peroksidom (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)



Grafikon 2. Postotni udjeli ukupnog praha (čestice 0,063-0,002 mm) u 20 uzoraka tla analiziranih bez/nakon spaljivanja organske tvari (OT) vodikovim peroksidom (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

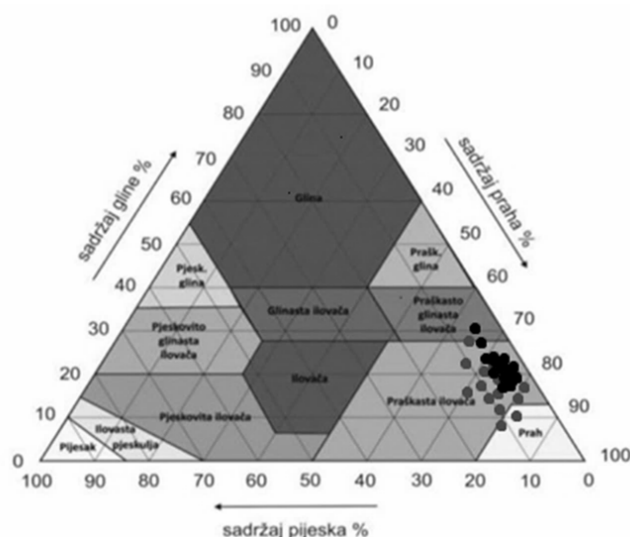


Grafikon 3. Postotni udjeli gline (čestice <0,002 mm) u 20 uzoraka tla analiziranih bez/nakon spaljivanja organske tvari (OT) vodikovim peroksidom (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

U pogledu teksture tla, uzorci su u pravilu označeni kao praškaste ilovače, neovisno o primjeni ili izostanku spaljivanja OT (Grafikon 4). Tek je u dva slučaja oznaka bila prah (uzorci koji nisu prošli tretman spaljivanja OT), a u jednom praškasto glinasta ilovača (uzorci koji su prošli tretman spaljivanja OT). Dakle, bez obzira da li se tretman s  $H_2O_2$  primjenjuje ili ne, u analiziranim tlama u pravilu ne dolazi do promjena u teksturnoj oznaci tla, koja se općenito smatra primarnim pokazateljem niza svojstava tla (Pernar, 2017.)

Tablica 2. Rezultati t-testa (N=20) razlika u sadržajima ukupnog pijeska, praha i gline (redom čestica dimenzija 2-0,063, 0,063-0,002 i <0,002 mm), ovisno o primjeni ili izostanku spaljivanja organske tvari tla vodikovim peroksidom (30%  $H_2O_2$ )

	Ukupni pijesak	Ukupni prah	Glina
Suma razlika	72,44	149,65	226,36
Prosječna razlika	2,91	1,74	4,65
T vrijednost	6,66	2,77	6,02
P vrijednost	<0,01	<0,05	<0,01



Grafikon 4. Trokut za determinaciju teksturne klase tla (modificiran prema FAO, 2006.) s točkama koje su sjecišta pravaca određenih udjelima pijeska, praha i gline (redom čestica dimenzija 2-0,063, 0,063-0,002 i <0,002 mm) u 20 uzoraka tla analiziranih bez (svjetlije/sive točke) ili nakon (tamnije/crne točke) spaljivanja organske tvari tla vodikovim peroksidom (30%  $H_2O_2$ )

## Zaključak

Izostavljanje uklanjanja OT iz slabo humoznih uzoraka tla utjecao je na rezultate provedene analize MST. Naime, u odnosu na rezultate dobivene s uklanjanjem OT, utvrđene su statistički signifikantne razlike u udjelima svih temeljnih mehaničkih frakcija (pijesak, prah, glina). Ipak, utvrđene razlike nisu utjecale na determinaciju teksturne klase tla (gotovo svi uzorci su označeni kao praškaste ilovače), i to uglavnom zato jer su razlike zabilježene u udjelu praha, kao dominantne mehaničke frakcije u analiziranim uzorcima, bile zanemarivo male. Stoga, izostavljanje uklanjanja OT iz uzoraka slabo humoznih praškasto ilovastih tala, u svrhu pojednostavljenja analize MST, može biti opravdano ako se ne zahtijeva visoka točnost analize, već prvenstveno određivanje teksturne klase tla.



## Literatura

- Di Stefano C., Ferro V., Mirabile S. (2010). Comparison between grain-size analyses using laser diffraction and sedimentation methods. *Biosystem engineering*. 10: 205–215.
- FAO (2006). *Guidelines for Soil Description*. Rome, Italy, FAO.
- Gasparotto E., Malo D. D., Gelderman R. H. (2003). Impact of Organic Matter Removal on Particle Size Analysis by Pipette and Hydrometer. *Soil/Water Research*, South Dakota State Univ., 2003 progress report. *Soil Pr* 03-16.
- Ge G. W., Bauder J. W. (1986). Particle-size analysis. Objavljeno u *Methods of soil analysis*, Part I, Klute A. (ed.), 383–411. Madison, WI: SSSA and ASA.
- Haghighi F., Gorji M., Shorafa M. (2010). A study of the effects of land use changes on soil physical properties and organic matter. *Land degradation and development* 21 (5): 496-502.
- HRN ISO 11277:2011 (2011). *Kakvoća tla - Određivanje raspodjele veličine čestica (mehaničkog sastava) u mineralnom dijelu tla – Metoda prosijavanja i sedimentacije (ISO 11277:2009)*.
- Jensen J. L., Schjønning P., Watts C. W., Christensen B. T., Munkholm L. J. (2017). Soil texture analysis revisited: Removal of organic matter matters more than ever. *PLoS ONE*. 12(5): e0178039. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178039>.
- Makó A., Tóth G., Weynants M., Rajkai K., Hermann T., Tóth B. (2017). Pedotransfer functions for converting laser diffraction particle-size data to conventional values. *European Journal of Soil Science*. 68: 769–782.
- Mikutta R., Kleber M., Kaiser K., Jahn R. (2005). Review: Organic Matter Removal from Soils using Hydrogen Peroxide, Sodium Hypochlorite, and Disodium Peroxodisulfate. *Soil Science Society of America Journal*. 69:120–135.
- Perković I., Pernar N., Bakšić D. (2013). Usporedba dvije metode prosijavanja i sedimentacije za određivanje granulometričkog sastava tla – mogućnosti i ograničenja interpretacije. *Šumarski list*. 11–12: 567–574.
- Pernar N. (2017). *Tlo – nastanak, značajke, gospodarenje*. Sveučilište u Zagrebu Šumarski fakultet.
- Shein E. V., Milanovskii E. Yu., Molov A. Z. (2006). The Effect of Organic Matter on the Difference between Particle-Size Distribution Data Obtained by the Sedimentometric and Laser Diffraction Methods. *Eurasian Soil Science*. 39: 84-90.

## Effect of soil organic matter removal on the particle size analysis of the selected soil samples

### Abstract

For soil particle size analysis (PSA), to better disaggregate the sample, soil organic matter (SOM) is often removed. This complicates and prolongs the analysis, increasing its cost. Effect of SOM combustion with hydrogen peroxide on PSA results for 20 humus-poor silt loams was studied. Fractions of sand were separated by wet sieving, and those of silt and clay by pipetting. Depending on the application/omission of SOM removal, the shares of soil fractions differed. However, for silt as the dominant fraction, they were negligibly small and did not affect soil texture class (mean shares with and without SOM removal were 73,4% and 75,4%, respectively). Omitting SOM removal in such soils may be justified if it's not the high accuracy of PSA that's required, but primarily the determination of texture class.

**Key words:** soil grain size distribution, soil organic matter combustion, hydrogen peroxide, soil disaggregation, pipette method

## Procjena hidropedoloških značajki temeljem mehaničkog sastava, volumne gustoće i ukupne poroznosti tla

Mario Sraka<sup>1</sup>, Stjepan Milobara<sup>2</sup>, Jerko Gunjača<sup>1</sup>, Radica Ćorić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (msraka@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Student diplomskog studija Agroekologije, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska*

<sup>3</sup>*Agronomski i prehrambeno tehnološki fakultet Sveučilišta u Mostaru, Biskupa Čule bb, Mostar, BiH*

### Sažetak

Cilj istraživanja bio je prikazati korelacijsko-regresijske odnose fizikalnih značajki tla (mehanički sastav, volumna gustoća, ukupna poroznost) i hidropedoloških konstanti (kapacitet tla za vodu, točka venuća i fiziološki aktivna voda) temeljem 2.099 podataka ranijih pedoloških istraživanja. Za frakciju pijeska je utvrđena negativna korelacija s točkom venuća ( $r=-0,72$ ). Frakcija gline je pokazala pozitivnu korelaciju s točkom venuća ( $r=0,76$ ), dok je korelacija s fiziološki aktivnom vodom bila negativna ( $r=-0,38$ ). Volumna gustoća tla je imala negativne korelacijske odnose sa svim hidropedološkim konstantama, dok je ukupna poroznost tla u pravilu imala pozitivne korelacijske odnose. Utvrđena točnost predviđanja hidropedoloških konstanti temeljem istraživanih parametara ostavlja mogućnost za daljnje usavršavanje ovih jednadžbi.

**Ključne riječi:** tlo, korelacija, regresija, hidropedološke konstante, fizikalne značajke

### Uvod

Hidropedološke konstante su važani parametri koji se često koriste pri izradi agropedoloških, hidroloških i ekoloških studija, te predstavljaju ključni ulazni parametar za utvrđivanje viškova ili manjkova vode u tlu, odnosno važne su za modeliranje protoka vode i transport onečišćenja kroz profil tla. Mjerenja ovih konstanti iako su važna i potrebna, zahtijevaju specifičnu opremu koja je skupa, kao i stručno osoblje koje će koristiti navedenu opremu (Zhao i Wang, 2012.). Mnogi znanstvenici su istraživali utjecaj fizikalnih značajki tla na hidropedološke konstante (Hill i Summer, 1967.; Rawls i sur., 1991.; Rieu i Sposito, 1991.; Rajkai i sur., 2004.; Reichert i sur., 2009.; Ghanbarian-Alavijeh i sur., 2010.). Temeljem njihovih rezultata razvijene su brojne pedotransferne funkcije za procjenu hidrauličkih značajki tla, iz lakše mjerljivih ili pristupačnijih podataka fizikalnih značajki tla. Pregled ovakvih istraživanja prikazuju Tietje i Tapkenhinrichs (1993.), te Bruand i sur. (1997.). Gupta i Larson (1979.) kao temelj izračuna količine vode u tlu pri različitim vrijednostima vodnog potencijala koriste jednadžbu višestruke linearne regresije koja uključuje udio čestica pijeska, praha i gline, sadržaj organske tvari i volumnu gustoću tla, te dobivaju visoke vrijednosti korelacijskih koeficijenata između nezavisnih i zavisnih varijabli ( $r=0,94$ ). Rawls i sur. (1982.) testiraju njihovu jednadžbu na 2.541 različitim horizonata tla koji obuhvaćaju glavne USDA teksturne klase, te dobivaju zadovoljavajuće korelacijske koeficijente ( $r=0,80$  do  $0,95$ ) obzirom na veliku varijabilnost korištenih podataka. Saxton i sur. (1986.) razvijaju jednadžbu koja pokazuje vezu između sadržaja gline, praha i pijeska s količinom vode u tlu, te zaključuju da je udio gline ključan parametar proračuna, ali da je za veću pouzdanost jednadžbe potrebno uključiti i parametre o tipu glinenih minerala, sadržaju organske tvari, volumnoj gustoći i strukturi tla. Vereecken i sur. (1989.) u svoja istraživanja uključuju teksturu tla, volumnu gustoću i sadržaj organske tvari, te zaključuju da najveći utjecaj na sadržaj vode u tlu pri različitim vodnim potencijalima ima teksturni sastav tla. I drugi autori (Haverkamp i Parlange, 1986.; Kravchenko i Zang,

1998.). ističu teksturu tla kao ključan parametar procjene retencije vode u tlu, te se može zaključiti da su tekstura, volumna gustoća i porozitet tla ključni parametri za procjenu vrijednosti hidropedoloških konstanti. Podaci o navedenim fizikalnim značajkama tla su dostupniji, lakše mjerljivi, analize traju kraće i jeftinije su u odnosu na laboratorijsko određivanje hidropedoloških značajki. Stoga je osnovni cilj ovog istraživanja utvrditi stupanj pouzdanosti pojedinih fizikalnih značajki tla (udio gline, praha i pijeska, volumna gustoća, ukupna poroznost) za procjenu hidropedoloških konstanti (kapaciteta tla za vodu, točke venuća, fiziološki aktivne vode). Utvrđivanje smjera i jačine korelacijskih veza između navedenih značajki tla, potvrdit će mogućnost procjene hidropedoloških konstanti temeljem postojećih podataka o njihovim fizikalnim značajkama.

## Materijal i metode

U istraživanje su uključeni podaci površinskih i podpovršinskih slojeva automorfni i hidromorfni tala rasprostranjenih na čitavom području Republike Hrvatske. Temeljem postojećih podataka iz tumača sekcija Osnovne pedološke karte Republike Hrvatske, kao i podataka prikupljenih iz studija i projekata Zavoda za pedologiju izdvojeno je 2.099 uzoraka koji imaju kompletnu analitiku koja uključuje: sadržaj gline, praha i pijeska, volumnu gustoću, ukupni porozitet, kapacitet tla za vodu – retencija vode kod 0,03 MPa, točku venuća – retencija vode kod 1,5 MPa, te biljkama pristupačnu ili fiziološki aktivnu vodu tla – retencija vode između 0,03 i 1,5 MPa. Osnovne fizikalne značajke tla korištene u ovom istraživanju su određene prema standardnim pedološkim metodama.

Za opis fizikalnih značajki tla i hidropedoloških konstanti korištene su deskriptivne statističke metode: aritmetička sredina, minimalna i maksimalna vrijednost, te koeficijent varijacije. Testiranje nulte hipoteze o značajnom utjecaju analiziranih fizičkih značajki tla na vrijednost hidropedoloških konstanti obavljeno je korištenjem t-testa. Za utvrđivanja stupnja povezanosti fizikalnih značajki tla i hidropedoloških konstanti korištene su statističke metode korelacije i regresije. Korelacijsko-regresijski odnosi između navedenih varijabli, kao i njihova varijabilnost izračunati su korištenjem programa Microsoft Excel. Za određivanje jačine korelacije korištena je Roemer-Orphal-ova tablica (Vasilj, 2000.).

## Rezultati i rasprava

Podaci o rasponu vrijednosti fizikalnih značajki tla (udio gline, praha i pijeska, volumna gustoća, ukupni porozitet) i hidropedoloških konstanti (kapacitet tla za vodu, točka venuća, fiziološki aktivna voda) korištenih u ovom istraživanju prikazana su u tablici 1. Podaci ukazuju na veliku varijabilnost pedološkog pokrova u Republici Hrvatskoj. Koeficijenti varijacije ukazuju da su najveće varijabilnosti korištenih podataka utvrđeni za udio gline i pijeska, a najmanji za ukupnu poroznost, volumnu gustoću i kapacitet tla za vodu.

Tablica 1. Aritmetička sredina, najmanja (Min) i najveća (Max) vrijednost, te koeficijent varijacije (Cv) za varijable korištene u istraživanju

Varijable	Aritmetička sredina	Min	Max	Cv
Pijesak (%)	42.8	1.8	99.5	50.2
Prah (%)	30.0	0.2	69.7	39.2
Glina (%)	27.3	0.2	85.0	57.5
Volumna gustoća (gcm <sup>-3</sup> )	1.36	0.2	1.84	16.4
Ukupni porozitet (% vol.)	49.4	21.1	92.0	14.2
Kapacitet tla za vodu (% mas.)	41.7	21.9	83.0	16.7
Točka venuća (% mas.)	17.2	0.3	37.1	37.9
Fiziološki aktivna voda (% mas.)	24.6	8.4	68.3	27.8

Dominatna teksturna oznaka u istraživanju je laka glina s 722 podataka (34,4% zastupljenosti), zatim glinasta ilovača s 400 podataka (19,1%), teška glina s 269 podataka (12,8%), pjeskovita ilovača 184 podataka (8,8%), ilovača 157 podataka (7,5%), ilovasti pijesak 114 podataka (5,4%), praškasta glina 91 podatak (4,3%), pjeskovito glinasta ilovača 78 podataka (3,7%), praškasto glinasta ilovača 52 podatka (2,5%), dok su sporedno zastupljeni praškasta ilovača s 19 podataka (0,9%) i pjeskovita glina za koju ima samo 13 podataka (0,6%). Prema tome se može reći da u istraživanju dominiraju tla (oko trećine uzorka) koja imaju 25-45% glinenih čestica, 0-45% čestica praha i 10-55% čestica pijeska.

Za glinu su utvrđene vrlo jake pozitivne korelacije s točkom venuća, slabe pozitivne korelacije s kapacitetom tla za vodu, te slabe negativne korelacije s fiziološki aktivnom vodom tla, tablica 2. Pijesak ima jake negativne korelacije s točkom venuća, slabe negativne korelacije s kapacitetom tla za vodu, te slabe pozitivne korelacije s fiziološki aktivnom vodom tla. Prah pokazuje uglavnom slabe korelacije s hidropedološkim konstantama ili korelacija uopće nema.

Tablica 2. Korelacijski odnosi fizikalnih značajki tla i hidropedoloških konstanti

Varijable	Kapacitet tla za vodu	Točka venuća	Fiziološki aktivna voda
Pijesak	-0.36	-0.72	0.32
Prah	0.20	0.29	-0.07
Glina	0.34	0.76	-0,38
Volumna gustoća	-0.69	-0.29	-0,43
Ukupni porozitet	0.79	0.29	0.52

Pozitivne korelacije gline s točkom venuća i kapacitetom tla za vodu ukazuju da tla s većim sadržajem gline povećavaju ukupnu količinu vode u tlu, ali i količinu vode nepristupačnu biljkama koja se nalazi u najsitnijim mikroporama. Slične rezultate navode i Žic (1976.), Husnjak i Bosak (2014.) te Sraka i sur. (2016.) koji utvrđuju vrlo jake pozitivne korelacije ( $r=0,75$  do  $0,77$ ) između udjela gline i točke venuća. Navedeno je posljedica velikog matričnog potencijala koju posjeduju glinene čestice, čime se smanjuje kretanje vode u tlu, odnosno količina biljkama pristupačne vode. Nasuprot tome, čestice pijeska radi malog matričnog potencijala pokazuju slabu negativnu korelaciju s kapacitetom tla za vodu, ali i jaku negativnu s točkom venuća. Volumna gustoća tla ima negativne korelacije sa svim analiziranim hidropedološkim konstantama, pri čemu su najjače korelacije utvrđene s kapacitetom tla za vodu, a najslabije s točkom venuća. Rawls et al. (2003.) ukazuju na veliki doprinos volumna gustoće na vrijednost hidropedoloških konstanti. Nasuprot tome ukupni porozitet pokazuje pozitivne korelacije sa svim hidropedološkim konstantama, pri čemu jačina korelacija varira od vrlo jake za kapacitet tla za vodu do slabe za točku venuća.

Iako analiza t-testom ukazuje na signifikantnu povezanost fizikalnih značajki tla i hidropedoloških konstanti, relativno niske vrijednosti koeficijenta determinacije ( $R^2$ ) upućuju da neke od korištenih varijabli fizikalnih značajki tla nisu dobar prediktor hidropedoloških značajki, prvenstveno radi njihove velike varijabilnosti u uzorku.

Rezultati pokazuju da je udio praha najslabiji prediktor hidropedoloških konstanti, budući da objašnjava svega 1-8% varijabilnosti hidropedoloških konstanti. Najbolji prediktor za kapacitet tla za vodu i fiziološki aktivnu vodu je ukupni porozitet koji pokriva 62%, odnosno 27% varijabilnosti, dok za točku venuća je najbolji prediktor udio gline (pokriva 58% varijabilnosti).

Regresijske jednadžbe koje opisuju odnose fizikalnih značajki tla i hidropedoloških konstanti ukazuju da se najveće jedinične promjene hidropedoloških konstanti događaju prilikom jedinične promjene volumne gustoće tla, tablica 3.

Tablica 3. Regresijski odnosi fizikalnih značajki tla i hidropedoloških konstanti

Varijable	Kapacitet tla za vodu	Točka venuća	Fiziološki aktivna voda
Pijesak	$y = -0.1161x + 46.711$	$y = -0.217x + 26.433$	$y = 0.1007x + 20.302$
Prah	$y = 0.1194x + 38.168$	$y = 0.1615x + 12.311$	$y = -0.0419x + 25.866$
Glina	$y = 0.1512x + 37.625$	$y = 0.3176x + 8.4959$	$y = -0.166x + 29.134$
Volumna gustoća	$y = -25.026x + 75.584$	$y = -10.396x + 31.208$	$y = -15.187x + 45.161$
Ukupni porozitet	$y = 0.7841x + 3.014$	$y = 0.4797x + 0.6549$	$y = 0.5097x - 0.5701$

## Zaključak

Navedena točnost predviđanja hidropedoloških konstanti temeljem pojedinačnih podataka o udjelu gline, praha i pijeska, volumnoj gustoći i ukupnoj poroznosti tla ostavlja prostora za dalje usavršavanje ovih jednadžbi, posebice u smislu korištenja jednadžbi višestruke regresije koje bi osim većeg broja fizikalnih značajki tla koristile i neke kemijske značajke, kao što je sadržaj organske tvari, za koju mnogi autori ističu da je važan parametar koji utječe na količinu vode u tlu pogotovo pri malim tlakovima. Za povećanje točnosti i pouzdanosti predviđanja hidropedoloških konstanti preporuča se obrada podataka unutar pojedinih teksturnih klasa tla, čime bi se smanjila velika varijabilnost podataka fizikalnih značajki tla koje se koriste za njihovu procjenu.

## Literatura

- Bruand A., Duval O., Wösten J. H. M., Lilly A. (1997). The use of pedotransfer in soil hydrology research in Europe. Orléans, INRA, 211.
- Ghanbarian-Alavijeh B., Liaghat A, Huang G. H., Van Genuchten M. T. (2010). Estimation of the van Genuchten Soil Water Retention Properties from Soil Textural Data. *Pedosphere*, 20 (4): 456-465.
- Gupta S. C., Larson W. E. (1979). Estimating Soil Water Retention Characteristics From Particle Size Distribution, Organic Matter Percent, And Bulk Density. *Water Resources Research*, 15 (6): 1633-1635.
- Haverkamp R., Parlange J. Y. (1986). Predicting The Water Retention Curve From Particle Sized Distribution: 1. Sandy Soils Without Organic Matter. *Soil Science*, 142 (6): 325-339.
- Hill J.N. S., Summer M.E. (1967). Effect of bulk density on moisture characteristics of soils. *Soil Science*, 103 (4): 234 –238.
- Husnjak S., Bosak M. (2014). Utjecaj značajki tla na retenciju vlage u tlu. *Agronomski glasnik*, 76 (1-2): 3-14.
- Kravchenko A., Zhang R. (1998). Estimating The Soil Water Retention From Particle-Size Distributions: A Fractal Approach. *Soil Science*, 163 (3):171-179.
- Rajkai K., Kabos S., Van Genuchten M. T. (2004). Estimating the water retention curve from soil properties: comparison of linear, nonlinear and concomitant variable methods. *Soil and Tillage Research*, 79 (2): 145-152.
- Rawls W. J., Brakensiek D.L., Saxton K.E. (1982). Estimation of water soil properties. *Transactions of the ASAE*, 25 (5): 1316-1320.
- Rawls W. J., Gish T. J., Brakensiek D. L. (1991) Estimating Soil Water Retention from Soil Physical Properties and Characteristics. Objavljeno u *Advances in Soil Science*, Stewart B. A. (ed), 213-234. New York, NY, Springer.
- Reichert J. M., Albuquerque J. A., Kaiser D. R., Reinert D. J., Urach F. L., Carlesso R. (2009). Estimation of Water Retention and Availability in Soils of Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33:1547-1560.

- Rieu M., G. Sposito G. (1991). Fractal fragmentation soil porosity and soil water properties I Theory. Soil Science Society of American Journal, 55: 1231-1238.
- Saxton K. E., Rawls W. J., Romberger J. S., Papendick R. I. (1986). Estimating generalized soil water characteristics from texture. Soil Science Society of America Journal, 50 (4): 1031-1036.
- Saxton K. E., Rawls W. J. (2006). Soil Water Characteristic Estimates by Texture and Organic Matter For Hydrologic Solutions. Soil Science Society Of America Journal, 70, 1569-1578.
- Sraka M., Fejer D., Prološćić J. (2016). Utjecaj fizikalnih značajki tala sliva rijeke Drave na retenciju vode. Objavljeno u *Zborniku radova 51. hrvatskog i 11. međunarodnog simpozija agronoma*, Pospišil M. (ed), 31-35. Opatija, Hrvatska. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Tietje O., Tapkenhinrichs M. (1993). Evaluation of Pedo-Transfer Functions. Soil Science Society of America Journal. 57 (4): 1088-1095.
- Vasilj Đ. (2000). Biometrika i ekperimentiranje u bilinogojstvu. Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb.
- Vereecken H., Maes J., Feyen J., Darius P. (1989). Estimating the soil moisture retention characteristics from texture, bulk density, and carbon content. Soil Science, 148(6): 389-403.
- Zhao T. Y., Wang J. F. (2012). Soil-water characteristic curve for unsaturated loess soil considering density and wetting-drying cycle effects. Journal of Central South University (Science and Technology), 43: 2445-2453.
- Žic M. (1976). Neke metode određivanja vodnih osobina tla i njihova ovisnost o drugim fizikalnim svojstvima. Poljoprivredna znanstvena smotra, 107-114.

## **Assessment of water retention properties based on texture, bulk density and total porosity of soil**

### **Abstract**

The aim of this study was to determine the correlation-regression relationships of soil physical characteristics (mechanical composition, bulk density and total porosity) and water retention properties (soil water capacity, wilting point and physiologically active water) based on 2.067 data from previous pedological researches. For sand fraction, a negative correlation was found with the wilting point ( $r = -0.72$ ). Clay fraction showed a positive correlation with the wilting point ( $r = 0.76$ ), while the correlation with physiologically active water was negative ( $r = -0.38$ ). Bulk density of the soil had negative correlations with all hydropedological constants, while the total porosity of the soil generally had positive correlations. The determined accuracy of the predicting of hydropedological constants based on the researched parameters leaves possibilities for further improvements of these equations.

**Key words:** soil, correlation, regression, water retention properties, physical characteristics

## Akumulacija nikla i kroma u samoniklim jestivim gljivama

Ivan Širić, Valentino Držaić, Ivica Kos, Ante Kasap, Boro Mioč, Marija Crljenjak

Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska  
(isiric@agr.hr)

### Sažetak

Teški metali uzrokuju brojne probleme u ekosustavu i mogu biti akumulirani brojim živim organizmima posebno u gljivama. Cilj istraživanja bio je utvrditi koncentracije nikla i kroma te bioakumulacijski potencijal samoniklih jestivih gljiva na području Petrove gore. Analiza navedenih metala provedena je metodom rendgenske fluorescentne spektrometrije na XRF – spektrometru. Najviša prosječna koncentracija nikla ( $3,15 \text{ mg kg}^{-1}$ ) te kroma ( $2,44 \text{ mg kg}^{-1}$ ) utvrđena je u vrsti *Agaricus silvicola*. Utvrđene su razlike u prosječnoj distribuciji analiziranih metala između morfoloških dijelova plodnog tijela gljiva, pri čemu su značajno ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ) veće koncentracije utvrđene u klobuku u odnosu na stručak. Bioakumulacijska svojstva nisu utvrđena za analizirane vrste gljiva prema metalima niklu i kormu ( $\text{BCF} < 1$ ).

**Ključne riječi:** teški metali, gljive, bioakumulacijski potencijal, ekologija

### Uvod

Porast broja stanovnika, intenzivna industrijalizacija i urbanizacija uvjetovali su onečišćenje životne sredine prije svega tla i vode. Sve veća prisutnost štetnih tvari u okolišu, osobito teških metala i metaloida, postao je nezaobilazni problem današnjice. Europska agencija za okoliš navodi da će kontaminirana mjesta (tlo, voda) porasti za 50% do 2025. godine, a oko 340.000 mjesta vjerojatno će trebati hitnu sanaciju u svijetu (EEA, 2020). Trinaest metala u tragovima i metaloida (Ag, As, Be, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Se, Tl i Zn) smatraju se prioritetima zagađivačima ekosustava (Gadd, 2010). Iako su sastavni dio Zemljine biosfere, čovjekovim djelovanjem povećavaju se prirodno prisutne razine navedenih elemenata u okolišu. Nikal se prirodno pojavljuje u okolišu, često u kombinaciji sa željezom i sumporom. S druge strane, nikal ima brojne industrijske namjene i antropogene izvore (industrijski otpadni materijal, vapno, gnojiva i kanalizacijski mulj) koji mogu kontaminirati tlo i vode (Kabata-Pendias i Mukharjee, 2007.). Navedeni metal predstavlja opasnost za zdravlje ljudi zbog mogućih rafinerijskih prašina koje su kancerogene za pluća i nosna tkiva (Cecchi i sur., 2017.). Također, krom je metal sveprisutan u okolišu zraku, tlu i vodi. Pojavljuje se u nekoliko oksidacijskih stanja, a najčešće u trovalentnom i šesterovalentnom stanju. Šesterovalentni krom je visoko otrovan, a pokazuje genotoksično i kancerogeno djelovanje na životinje i ljude (Garcia i sur., 2013.). Gljive su zasebna mikrobiološka skupina organizama značajne nutritivne, medicinske i ekološke vrijednosti (Eggen i Šašek, 2002.). Akumulacija teških metala u gljivama je kompleksno svojstvo koje ovisi o brojnim vanjskim čimbenicima, mehanizmima unutar gljiva, njihovoj interakciji i genetskim karakteristikama vrste (Širić i Falandysz, 2020.). Gustoća i dubina micelija koji živi u tlu nekoliko mjeseci ili godinama utječe na sadržaj teških metala u plodnim tijelima gljiva. Pored toga, razni ekološki čimbenici i svojstva tla (pH vrijednost i organska tvar) mogu utjecati na koncentraciju teških metala u gljivama (Garcia i sur., 2009.). Iako se koncentracija teških metala u gljivama (jestivim) povezuje s mineralogijom supstrata (Aloupi i sur., 2012.) ili s jako zagađenim područjima poput velikih gradova ili industrijskih središta (Petkovšek i Pokorny, 2013.), sadržaj teških metala između vrsta i područja prikupljanja gljiva je

nedovoljno proučavan. Spoznaje o akumulacijskom potencijalu jestivih saprotrofnih i ekotomikoriznih gljiva u Hrvatskoj su jako skromne. Aktualna znanstvena istraživanja ukazuju na mogućnost korištenja vrijednosti sadržaja nekih teških metala u gljiva kao bioindikatora onečišćenja okoliša. Međutim, izrazito visoke koncentracije toksičnih teških metala u jestivim gljivama mogu imati negativne učinke na zdravlje ljudi. Stoga je cilj ovog istraživanja utvrditi koncentracije nikla i kroma u samoniklim jestivim saprotrofnim i ekotomikoriznim gljivama te prikladnost gljiva kao bioloških pokazatelja onečišćenja okoliša prema navedenim metalima.

### Materijali i metode

Uzorci gljiva i tla prikupljeni su na lokalitetu Petrova gora. Na navedenom lokalitetu prikupljeni su uzorci saprotrofnih vrsta: šumska pečurka - *Agaricus silvicola* (Vittad.) Peck, medena puza - *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm., žuta uleknjača - *Clitocybe inversa* (Scop.) Quél., maglenka - *Clitocybe nebularis* (Batsch) P. Kumm. i sunčanica - *Macrolepiota procera* (Scop.) Singer te simbiotskih (ekotomikoriznih) vrsta: gljiva ljetni vrganj - *Boletus aestivalis* (Paulet) Fr., crnogorični vrganj - *Boletus edulis* Bull., smrekina rujnica - *Lactarius deterrimus* Gröger, sivka - *Tricholoma portentosum* (Fr.) Quél., i mišek - *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm. Navedene vrste gljiva odabrane su zbog kulinarske kakvoće, komercijalizacije i učestalosti na istraživanom području. Ukupno je prikupljeno 107 uzoraka potpuno razvijenih plodnih tijela navedenih vrsta gljiva slučajnim odabirom. Također, s prikupljanjem uzoraka gljiva, prikupljeni su uzorci tla gornjeg horizonta (0 – 10 cm dubine) nakon uklanjanja površinskog sloja (lišće i drveće).

Nakon determinacije, uzorci gljiva su očišćeni i odvojeni na anatomske dijelove klobuk (*pileus*) i stručak (*stipes*), te osušeni na 110 °C do konstantne težine. Zatim su uzorci samljeveni na laboratorijskom mlinu (Retsch SM 200) kroz sito promjera otvora 2,0 mm i prešani na uređaju Spectro Press (Complex, USA) u trajanju od 10 minuta pod pritiskom 59,7 kg/mm<sup>2</sup>. Prešanjem uzoraka priređeni su briketi odgovarajuće veličine ( $r = 32$  mm,  $d = 6$  mm,  $m = 5$  g), koji su spremljeni i hermetički zatvoreni u plastične vrećice do očitavanja sadržaja kroma i nikla. Koncentracija teških metala kroma i nikla utvrđivana je zasebno u anatomskim dijelovima klobuku i stručku. metodom Rentgenske fluorescentne spektrometrije. Prikupljeni uzorci tla osušeni su na sobnoj temperaturi kroz dva tjedna te samljeveni i prosijani kroz sito promjera otvora 2,0 mm. U pripremljenim uzorcima tla izvršeno je određivanje ukupnih koncentracija navedenih metala. Analitički postupak za određivanje koncentracije nikla i kroma u gljivama i tlu proveden je metodom Rentgenske fluorescentne spektrometrije (engl. X-rays fluorescence spectrometry) na uređaju XRF spektrometar (Twinx, Oxford Instruments, Velika Britanija). Kvalitativne analize XRF spektrometrom provode se za identifikaciju elemenata u periodnom sustavu između kalija – K i uranija – U (osim plemenitih plinova). Pripremljeni briketi omotani su folijom (Oxford Polyh) i stavljeni u cilindre za uzorke na uređaju XRF-spektrometar. Koncentracija kroma i nikla određena je pomoću PIN detektora, a dobiveni rezultati (ukupne koncentracije) izraženi su u mg kg<sup>-1</sup> suhe tvari. Vrijednosti pH uzoraka supstrata određena je potenciometrijski u suspenziji supstrata tla i destilirane vode (aktualna kiselost) u omjeru 1 : 5, a napravljena je prema metodi preuzetoj iz „Metode za analize tla“ (Thomas 1996), pomoću prijenosnog pH-metra IQ 150 (IQ Scientific Instruments, USA). Sadržaj organske tvari u uzorku supstrata određen je gravimetrijski nakon spaljivanja organske tvari (2g supstrata osušenog na zraku) na 550 °C kroz 16 h u peći (Select – Horn. SELECTA) prema Melgaru i sur. (2009). Biokoncentracijski faktor (BCF) izračunat je kao kvocijent između koncentracije teških metala u plodnom tijelu gljive i koncentracije teških metala u tla. Statistička obrada rezultata provedena softverskim paketom SAS V8 primjenom GLM statističke procedure.



## Rezultati i rasprava

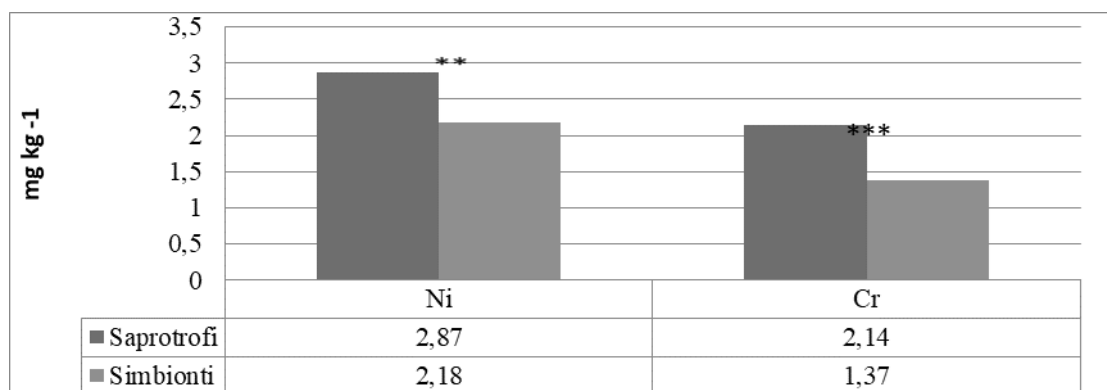
Osobine tla (pH H<sub>2</sub>O vrijednost i sadržaj organske tvari) te prosječne koncentracije analiziranih metala u tlu na lokalitetu Petrova gora prikazani su u Tablici 1. Utvrđena srednja vrijednost pH tla od 6,22 na navedenom lokalitetu ukazuje na blagu kiselu reakciju tla (Gračanin i Ilijanič, 1977.). Prosječna vrijednost organske tvari u tlu iznosila je 6,75 %, što odgovara kategoriji jako humoznih tala (>5,00%) (Gračanin i Ilijanič, 1977.). Analizom nikla i kroma u tlu na istraživanom lokalitetu utvrđena je razlika u koncentraciji navedenih metala u tlu. Utvrđena prosječna koncentracija nikla u tlu iznosila je 11,97 mg kg<sup>-1</sup>, a kroma 9,22 mg kg<sup>-1</sup>, a što je unutar maksimalno dopuštenih koncentracija propisanih Pravilnikom (NN 39/2013).

Tablica 1. Vrijednost pH, sadržaja organske tvari (%) i koncentracija nikla i kroma (mg kg<sup>-1</sup>) u tlu na lokalitetu Petrova gora

Lokalitet	pH H <sub>2</sub> O	O.T.%	Ni	Cr
Petrova gora	6,22 ± 0,45	6,75 ± 7,22	11,97 ± 1,34	9,22 ± 0,78

Rezultati su prikazani kao prosjeci suma najmanjih kvadrata ± standardna devijacija.

Grafikon 1. prikazuje razlike u ukupnim koncentracijama nikla i kroma između analiziranih saprotrofnih i simbiotskih vrsta gljiva. Na temelju prikazanih rezultata vidljivo je da su ukupne koncentracije nikla i kroma bile značajno ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ) različite s obzirom na način ishrane gljiva obuhvaćenih ovim istraživanjem. Sukladno navedenom, saprotrofne vrste gljiva imale su statistički značajno veću sposobnost akumulacije nikla (2,87 nasuprot 2,18 mg kg<sup>-1</sup> za simbiotske vrste), te kroma (2,14 nasuprot 1,37 mg kg<sup>-1</sup> za simbiote).



Grafikon 1. Prosječne koncentracije nikla i kroma u analiziranim saprotrofnim i simbiotskim vrstama gljiva na području Petrove gore.

Zvjezdice označavaju značajnu razliku između istraživanih skupina gljiva (\*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$ ).

Prosječne koncentracije nikla i kroma u anatomske dijelovima plodnog tijela analiziranih vrsta gljiva te vrijednosti biokoncentracijskog faktora prikazane su u tablici 2. Iz navedene tablice razvidno je da su koncentracije nikla i kroma bile značajno različite između analiziranih vrsta gljiva. Statistički značajno najveća ( $P < 0,05$ ) prosječna koncentracija nikla od 3,56 mg kg<sup>-1</sup> utvrđena je u klobuku saprotrofne vrste *A. silvicola*. Navedena vrsta akumulirala je najveće prosječne koncentracije kroma (2,91 mg kg<sup>-1</sup>) u istom morfološkom dijelu plodnog tijela klobuku. Suprotno navedenom najniže prosječne koncentracije nikla utvrđene su u stručcima ektomikorizne vrste *Boletus aestivalis* (1,72 mg kg<sup>-1</sup>). Također, ektomikorizna vrsta *Tricholoma terreum* sadržavala je značajno ( $P < 0,05$ ) najniže koncentracije kroma (0,55 mg kg<sup>-1</sup>). Vrijednosti biokoncentracijskog faktora (BCF) prema metalima niklu i kromu bile su različite između analiziranih vrsta gljiva, pri čemu su izračunate vrijednosti bile znatno manje od 1 za sve analizirane vrste gljiva (Tablica 2).

Tablica 2. Koncentracije nikla i kroma u analiziranim vrstama gljiva ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), vrijednosti biokoncentracijskog faktora (BCF)

Vrsta gljive	Ni				Cr			
	Klobuk $\pm$ SD	Stručak $\pm$ SD	R.Z.	BCF	Klobuk $\pm$ SD	Stručak $\pm$ SD	R.Z.	BCF
<i>Agaricus silvicola</i> (n=12)	3,56 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	2,74 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	***	0,24	2,91 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	1,97 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	***	0,28
<i>Armillaria mellea</i> (n=10)	3,21 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>	1,89 $\pm$ 0,19 <sup>cd</sup>	**	×	2,51 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	1,92 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>	**	×
<i>Clitocybe inversa</i> (n=12)	3,35 $\pm$ 0,31 <sup>b</sup>	2,19 $\pm$ 0,32 <sup>b</sup>	***	0,26	1,98 $\pm$ 0,23 <sup>c</sup>	1,70 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>	*	0,23
<i>Clitocybe nebularis</i> (n=13)	3,29 $\pm$ 0,37 <sup>b</sup>	2,73 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup>	**	0,25	2,37 $\pm$ 0,32 <sup>b</sup>	1,95 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	**	0,23
<i>Macrolepiota procera</i> (n=12)	3,07 $\pm$ 0,31 <sup>bc</sup>	2,66 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	*	0,21	2,25 $\pm$ 0,33 <sup>bc</sup>	1,89 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>	**	0,27
<i>Boletus edulis</i> (n=8)	2,75 $\pm$ 0,27 <sup>cd</sup>	1,89 $\pm$ 0,31 <sup>cd</sup>	***	0,21	2,43 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	1,82 $\pm$ 0,24 <sup>ab</sup>	***	0,24
<i>Boletus aestivalis</i> (n=10)	2,15 $\pm$ 0,35 <sup>e</sup>	1,72 $\pm$ 0,27 <sup>d</sup>	**	0,18	2,14 $\pm$ 0,26 <sup>c</sup>	1,79 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>	***	0,23
<i>Lactarius deliciosus</i> (n=9)	2,71 $\pm$ 0,34 <sup>cd</sup>	2,07 $\pm$ 0,24 <sup>bc</sup>	***	0,21	1,57 $\pm$ 0,18 <sup>d</sup>	1,09 $\pm$ 0,19 <sup>c</sup>	***	0,18
<i>Tricholoma portentosum</i> (n=11)	2,63 $\pm$ 0,31 <sup>d</sup>	2,21 $\pm$ 0,21 <sup>b</sup>	*	0,24	0,96 $\pm$ 0,22 <sup>e</sup>	0,66 $\pm$ 0,25 <sup>d</sup>	**	0,10
<i>Tricholoma terreum</i> (n=10)	1,99 $\pm$ 0,27 <sup>e</sup>	1,73 $\pm$ 0,19 <sup>d</sup>	*	0,18	0,71 $\pm$ 0,20 <sup>e</sup>	0,55 $\pm$ 0,13 <sup>d</sup>	*	0,07

a,b,c, d, e: Vrijednosti unutar stupca označene različitim slovom značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ ); R.Z. – razina značajnosti; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$ ; × raste na odumrlom stablu; n – broj uzoraka

Uspoređujući ranija istraživanja koncentracije nikla i kroma s utvrđenim vrijednostima u analiziranim vrstama gljiva, rezultati pokazuju uobičajene vrijednosti navedenih metala, a koje su se razlikovale ovisno o vrsti, području uzorkovanja, starosti plodnog tijela i gustoći micelija gljiva. Tako je, sukladno rezultatima Isildaka i sur. (2007.) i Garcie i sur. (2013.) utvrđena veća koncentracija nikla i kroma u ispitivanim saprotrofnim u odnosu na ektomikorizne vrste gljiva. Prikazane najveće i najmanje koncentracije nikla i kroma su očekivane s obzirom na način života saprotrofnih gljiva koje micelij razvijaju u površinskom sloju tla, ali i ektomikoriznih koje žive u simbiozi s višim biljkama, a micelij razvijaju na većoj dubini tla (Kalač, 2010.). U odnosu na ustanovljeni sadržaj nikla u vrsti *Tricholoma terreum*, Isildak i sur. (2007.) utvrdili su znatno niže koncentracije navedenog metala, a prikazano objašnjavaju ektomikoriznom zajednicom s borom *Pinus sylvestris* te područjem uzorkovanja. Garcia i sur. (2013.) navode znatno veće ukupne prosječne koncentracije kroma u ispitivanim vrstama gljiva u Španjolskoj, u odnosu na rezultate predmetnog istraživanja, što se može povezati sa područjem uzorkovanja. Također, Isildak i sur. (2007.)

prikazuju znatno veće koncentracije kroma u vrsti *Tricholoma terreum*, a kao glavni razlog navode visoke koncentracije kroma u ispitivanom tlu ( $88,50 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Nadalje, Aloupi i sur. (2012.) tvrde da koncentracija nikla i kroma u gljivama ovisi i o geokemiji tla na kojem gljive rastu. U skladu s tim, autori navode značajno veće ( $p < 0,001$ ) koncentracije kroma u gljivama koje rastu na serpentinstim tlima u odnosu na one prikupljene na vulkanskim tlima. Također, isti autori prikazuju značajno veće koncentracije nikla u vrstama roda *Lactarius* čiji su uzorci prikupljeni na serpentinu u odnosu na uzorke s vulkanskih tala ( $2,88$  nasuprot  $0,24 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Navedeno potvrđuju rezultati istraživanja Nikkarinena i Mertanena (2004.) koji navode značajan utjecaj geologije i geokemije supstrata na koncentraciju nikla u gljivama. Tako je, prosječna koncentracija nikla u vrsti *Lactarius deterrimus* utvrđena ovim istraživanjem u skladu s navodima Aloupija i sur. (2012.) za uzorke prikupljenje na serpentinu. Nadalje, vrste gljiva razlikuju se s obzirom na usvajanje i distribuciju nikla i kroma u anatomskim dijelovima plodnog tijela gljiva. Rezultati dosadašnjih istraživanja pokazuju da je najveći dio usvojenog nikla i kroma akumuliran u klobuku, dok se manji dio nalazi u stručku gljiva (Brzostowski i sur., 2011.; Širić i sur., 2016.), a što je u skladu s rezultatima predmetnog istraživanja. Razlog navedenoj većoj akumulaciji nikla i kroma pripisuje se biološkoj aktivnosti proteina sadržanih u sporama koje su sastavni dio klobuka u odnosu na ostatak plodnog tijela gljiva (Garcia i sur., 2013.). Međutim, bitno je naglasiti da su općenito koncentracije nikla i kroma u gljivama jako niske u usporedbi sa sadržajem u tlu ( $11,97 \text{ mg kg}^{-1}$  i  $9,22 \text{ mg kg}^{-1}$ ) što ukazuje na slab bioakumulacijski potencijal analiziranih vrsta prema istraživanim metalima. Navedeno potvrđuju vrijednosti biokoncentracijskog faktora za sve analizirane vrste gljiva ( $\text{BCF} < 1$ ), a što je u suglasju s rezultatima istraživanja (Malinovske i sur., 2004., Gucie i sur., 2012., Garcia i sur., 2013.).

## Zaključak

Provedenim istraživanjem utvrđene su koncentracije nikla i kroma te bioakumulacijski potencijal samoniklih jestivih gljiva na području Petrove gore. Utvrđene su značajne razlike u koncentraciji analiziranih metala između vrsta gljiva te anatomskih dijelova plodnog tijela istih. Najviše prosječne koncentracije nikla  $3,15 \text{ (mg kg}^{-1}\text{)}$  i kroma  $2,44 \text{ (mg kg}^{-1}\text{)}$  utvrđene su u vrsti *Agaricus silvicola*, dok su najniže prosječne vrijednosti nikla  $1,86 \text{ (mg kg}^{-1}\text{)}$  i kroma  $0,63 \text{ (mg kg}^{-1}\text{)}$  ustanovljene u vrsti *Tricholoma terreum*. Utvrđene vrijednosti  $0,07 - 0,28$  biokoncentracijskog faktora ukazuju da analizirane vrste gljiva imaju velika odstupanja akumulacije prema metalima niklu i kromu. Prikazane vrijednosti ukazuju na slaba bioakumulacijska svojstva prema navedenim metalima ( $\text{BCF} < 1$ ). Koncentracije nikla i kroma utvrđene u ovom istraživanju odgovaraju razinama na nezagađenom području prema zakonu o te konzumacija analiziranih vrste ne predstavlja opasnost za zdravlje ljudi.

## Literatura

- Aloupi M., Koutrotsios G., Koulousaris M., Kalogeropoulos N. (2012). Trace metal contents in wild edible mushrooms growing on serpentine and volcanic soils on the island of Levos, Greece. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 78: 184–194.
- Božac R. (2008). Enciklopedija gljiva 2. Školska knjiga Zagreb.
- Brzostowski A., Jarzyska G., Kojta A.K., Wydmanska D., Falandysz J. (2011). Variations in metal levels accumulated in Poison Pax (*Paxillus involutus*) mushroom collected at one site over four years. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 46(6): 581–588.
- Cecchi G., Roccotiello E., Di Piazza S., Riggi A., Giorgio M., Zotti M. (2017). Assessment of Ni accumulation capability by fungi for a possible approach to remove metals from soils and waters. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 52(3): 166-170.
- EAA (2020). European Environment Agency.

- Eggen T., Šašek V. (2002). Use of edible and medicinal oyster mushroom [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kimm.] spent compost in remediation of chemically polluted soils. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 4: 225–261.
- Gadd G. M. (2010). Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology* 156: 609–643.
- García M. Á., Alonso J., Melgar M. J. (2009). Lead in edible mushrooms. Levels and bioaccumulation factors. *Journal of Hazard Materials* 167: 777–783.
- García M. A., Alonso J., Melgar M. J. (2013) Bioconcentration of chromium in edible mushrooms: influence of environmental and genetic factors. *Food Chemistry Toxicology* 58: 249–254.
- Gračanin M., Ilijanič Lj. (1977). Uvod u ekologiju bilja. Školska knjiga Zagreb.
- Gucia M., Jarzynska G., Kojta A., Falandysz J. (2012). Temporal variability in 20 chemical elements content of Parasol Mushroom (*Macrolepiota procera*) collected from two sites over a few years. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 47: 81–88.
- Isildak O., Turkekul I., Elmastas M., Aboul-Enein, H. Y. (2007). Bioaccumulation of heavy metals in some wild-grown edible mushrooms. *Analytical Letters* 40: 1099–1116.
- Kabata-Pendias A., Mukherjee A.B. (2007). Trace elements from soil to human. Springer-Verlag: Berlin.
- Kalač P. (2010). Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000–2009. *Food Chemistry* 122: 2–15.
- Malinowska E., Szefer P., Falandysz J. (2004). Metals bioaccumulation by bay bolete, *Xerocomus badius*, from selected sites in Poland. *Food Chemistry* 84: 405–416.
- Melgar M. J., Alonso J., Garcia M. A. (2009). Mercury in edible mushrooms and underlying soil: Bioconcentration factor and toxicological risks. *Science of the Total Environment* 407: 2328–2334.
- Nikkarinen M., Mertanen E. (2004). Impact of geological origin on trace element composition of edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analyses* 17: 301–310.
- NN (39/2013). Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja.
- Petkovšek S.S., Pokorny B. (2013). Lead and cadmium in mushrooms from the vicinity of two large emission sources in Slovenia. *Science of the Total Environment* 443: 944–954.
- Širić I., Humar M., Kasap A., Kos I., Mioč B., Pohleven F. (2016). Heavy metal bioaccumulation by wild edible saprophytic and ectomycorrhizal mushrooms. *Environmental science and pollution research* 23: 18239–18252.
- Širić, I., Falandysz, J. (2020). Contamination, bioconcentration and distribution of mercury in *Tricholoma* spp. mushrooms from southern and northern regions of Europe. *Chemosphere* 251: 126614.
- Thomas G.W. (1996). Soil pH and soil acidity. *Methods of soil analysis. Part 3 – chemical methods.* Soil Science Society of America and American Society of Agronomy 5: 457–490.

## Accumulation of nickel and chromium in wild edible mushrooms

### Abstract

Heavy metals cause serious problems in the environment, and they can be accumulated in organisms especially in the mushroom. The aim of this study was to determine the concentration of nickel and chromium and bioaccumulation potential of wild edible mushroom in Petrova gora area. The analyses of these metals were carried out by X-ray fluorescence spectrometry on XRF - Spectrometer. The highest mean concentration of Ni ( $3.15 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and Cr ( $2.44 \text{ mg kg}^{-1}$ ) were determined in *Agaricus silvicola*. The average distribution rates of investigated metals in anatomical parts of the fruiting bodies were significantly different ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ). Bioaccumulation features were not established in analyzed mushroom species for metals nickel and chromium ( $\text{BCF} < 1$ ).

**Key words:** heavy metals, mushroom, bioaccumulation potential, ecology

## Utjecaj mikrobioloških inokulanata za tretman sjemena na prinos i kakvoću soje

Krešimir Šunjić<sup>1</sup>, Jurica Jović<sup>2</sup>, Goran Jukić<sup>1</sup>, Suzana Kristek<sup>2</sup>, Vladimir Ivezić<sup>2</sup>, Ivan Varnica<sup>1</sup>, Dario Iljkić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Centar za sjemenarstvo i rasadničarstvo, Usorska 19, Brijest, Osijek, Hrvatska

<sup>2</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (jjovic@fazos.hr)

### Sažetak

Soja predstavlja, zahvaljujući visokim sadržajima ulja i bjelančevina, najznačajniju leguminozu na oranicama diljem svijeta. S obzirom da je predstajvena inokulacija sjemena uobičajena mjera u proizvodnji soje, cilj ovog istraživanja bio je usporediti utjecaj četiri različita mikrobiološka inokulanta sjemena na prinos i kakvoću zrna soje. Najveći prinos (3,37 t ha<sup>-1</sup>) ostvaren je inokulacijom sjemena preparatom HiCoat®Super, dok je najveći sadržaj ulja (20,50 %), odnosno bjelančevina (40,97 %), ostvaren inokulacijom sjemena mikoriznim gljivama, odnosno nesimbiotskim bakterijama. Za promatrane parametre nisu utvrđene statistički značajne razlike, dok je za sadržaj ulja i bjelančevina ustanovljena negativna korelacija ( $r = -0,9253$ ).

**Gljučne riječi:** soja, inokulacija sjemena, sadržaj ulja, sadržaj bjelančevina, mikrobiološki preparati

### Uvod

Soja (*Glycine max* L. Merr.) predstavlja najznačajniju leguminozu na oranicama Republike Hrvatske i na poljoprivrednim površinama diljem svijeta. Prema statističkim podacima FAOSTAT-a soja je, u desetogodišnjem razdoblju od 2009. do 2018., prosječno uzgajana na oko 113 milijuna hektara uz ostvareni prosječni prinos od 2,58 t ha<sup>-1</sup>. U Republici Hrvatskoj soja je u navedenom razdoblju prosječno uzgajana na oko 63 500 ha uz prosječan prinos zrna od 2,57 t ha<sup>-1</sup>. Zabilježen je stalni porast poljoprivrednih površina pod usjevom soje na globalnoj razini (FAOSTAT, 2020.). Svoju značajnu ulogu u poljoprivrednoj proizvodnji soja pronalazi zahvaljujući izuzetno visokom sadržaju ulja (18-24%) i bjelančevina (35-50%) u zrnu, ovisno o sorti i uvjetima uzgoja uslijed čega se koristi u ljudskoj prehrani i u hranidbi stoke (Vratarić i Sudarić, 2000.). Pored mineralne gnojidbe preporuča se i inokulacija ili bakterizacija sjemena soje različitim mikrobiološkim preparatima u svrhu bolje opskrbljenosti biljke hranivima, ponajviše dušikom. Postoje različiti mikrobiološki preparati koji sadrže simbiotske i/ili nesimbiotske fiksatore dušika, a koji se koriste u proizvodnji soje. Brojni autori u svojim istraživanjima navode pozitivne utjecaje inokulacije sjemena soje na rast i razvoj biljke te prinos i kakvoću zrna soje (Egamberdiyeva i sur., 2004.; Mehnaz i sur., 2009.; Solomon i sur., 2012.; Hungria i sur., 2015.; Zimmer i sur., 2016.).

Kako bi poljoprivredni proizvođači mogli potencijalno ostvariti veći prinos zrna po jedinici površine, cilj ovog istraživanja bio je usporediti utjecaj četiri različita mikrobiološka inokulanta za tretman sjemena na prinos i kakvoću zrna soje.

## Materijal i metode

Poljski pokus s različitim inokulantima za tretman sjemena postavljen je u proljeće 2020. godine u Osijeku na proizvodnim površinama HAPIH - Centra za sjemenarstvo i rasadničarstvo. Kemijskom analizom tla ustanovljeno je kako je tlo slabo kisele do neutralne pH reakcije, dobro, odnosno bogato opskrbljeno kalijem i fosforom te siromašno organskom tvari (Tablica 1.).

Tablica 1. Kemijska svojstva tla oraničnog sloja (0-30 cm)

pH (H <sub>2</sub> O)	pH (KCl)	Humus	AL-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	AL-K <sub>2</sub> O
		%	mg 100 g <sup>-1</sup> tla	mg 100 g <sup>-1</sup> tla
7,44	6,45	1,55	26,23	21,01

Pokus je postavljen prema shemi slučajnog bloknog rasporeda u tri ponavljanja. Površina osnovne parcelice iznosila je 10 m<sup>2</sup>. U osnovnoj gnojidbi dodano je mineralno gnojivo formulacije 7:20:30 u količini od 500 kg ha<sup>-1</sup> te ureja (46 % N) u količini od 100 kg ha<sup>-1</sup>, dok je predstajeno dodan KAN (27 % N) u količini od 71 kg ha<sup>-1</sup>. Predstajeno je obavljena inokulacija/bakterizacija sjemena soje s četiri različita mikrobiološka preparata kako slijedi: 1. kontrola (K), 2. bakterizacija sjemena nesimbiotskim bakterijama (N), 3. bakterizacija sjemena preparatom RizoliqTop (Rizobacter, Argentina), koji sadrži bakterije iz roda *Bradyrhizobium* (R), 4. bakterizacija sjemena preparatom HiCoat®Super (BASF, Njemačka), koji sadrži također bakterije iz roda *Bradyrhizobium* (H) te 5. inokulacija sjemena mikoriznim gljivama (M).

Sjetva soje je obavljena u drugoj polovici svibnja 2020. godine samohodnom žitnom sijačicom Wintersteiger na međuredni razmak od 25 cm. Sijana je srednje rana sorta soje Sunce, 0-I grupe zriobe, Poljoprivrednog instituta Osijek. Sjetvena norma je iznosila 130 kg ha<sup>-1</sup>. Zaštita usjeva obavljena je u skladu s preporukama struke, a korišteni herbicidi bili su Corum® i FocusUltra®. Sklop biljaka je određen uoči žetve na površini od 4 m<sup>2</sup>. Žetva pojedine parcele (10 m<sup>2</sup>) je obavljena kombajnom Wintersteiger u trećoj dekadi mjeseca rujna, a ostvareni prinos je izražen na osnovi 13% vlage zrna. Sadržaj ulja i bjelančevina je određen u laboratoriju Centra za sjemenarstvo i rasadničarstvo pomoću Infratec 1241 Grain Analyser uređaja (Foss, Danska), koji radi na principu NIT tehnologije (Near Infrared Transmission). Ukupno iskorištenje zrna soje određeno je na osnovi zbroja vrijednosti sadržaja ulja i sadržaja bjelančevina.

Podaci su statistički obrađeni analizom varijance (ANOVA) pomoću računalnog programa „Microsoft Excel“ i programa „SAS 9.4“, a statistički značajne razlike između tretmana utvrđene su F-testom pomoću LSD vrijednosti na razini 0,05.

## Rezultati i rasprava

Na svim tretmanima uočene su kvržične bakterije na korijenu biljke iako na pojedinim tretmanima nije bila izvršena inokulacije sjemena kvržičnim bakterijama. Ova činjenica podudara se s navodima brojnih autora koji navode da inokulacija sjemena soje kvržičnim bakterijama nije neophodna na parcelama na kojima je u nedavnom plodoredu bio zastupljen usjev soje (Vratarić i Sudarić, 2000.; De Bruin i sur., 2010.).

Prosječni prinosi zrna soje po tretmanima kretali su se između 2,80 t ha<sup>-1</sup> i 3,70 t ha<sup>-1</sup> što ukazuje na činjenicu kako su ostvareni iznadprosječni prinosi u usporedbi s višegodišnjim prosječnim prinosom soje (2,57 t ha<sup>-1</sup>) za Republiku Hrvatsku prema FAOSTAT statističkim podacima. Također, prosjek prinosa zrna soje na razini cijelog pokusa (3,26 t ha<sup>-1</sup>) bio je

veći u odnosu na prosječan prinos soje ( $3,0 \text{ t ha}^{-1}$ ) za Republiku Hrvatsku u 2020. godini (DZS, 2020.). Najveći prinos soje ( $3,70 \text{ t ha}^{-1}$ ) ostvaren je na četvrtom tretmanu (H) gdje je primijenjena bakterizacija sjemena soja s preparatom HiCoat® Super, dok je najmanji prinos soje ( $2,80 \text{ t ha}^{-1}$ ) ostvaren na trećem tretmanu (R) gdje je za inokulaciju korišten preparat RizoliqTop. Između pojedinih tretmana nisu ustanovljene statistički značajne razlike prinosa zrna soje (Tablica 2.) iako je između najvećeg i najmanjeg prinosa razlika iznosila relativno visokih  $900 \text{ kg ha}^{-1}$ . U odnosu na kontrolni tretman, inokulacija mikoriznim gljivama je povećala prinos za 9,4 %, inokulacija nesimbiotskim bakterijama za 18,4 %, dok je inokulacija preparatom HiCoat® Super povećala prinos za 23,7%. Primijena preparata RizoliqTop rezultirala je za 6,4% nižim prinosom u odnosu na kontrolni tretman (Tablica 2.). Navedeno se objašnjava činjenicom da autohtoni sojeva *B. japonicum* u tlu često mogu biti učinkovitiji od komercijalnih inokulata (Sharma i Kumawat, 2011.) te da učinkovitost simbioze između kvržičnih bakterija i kultivara soje često ovisi o okolišnim čimbenicima kao što su fizikalno-kemijska svojstva tla te odabir soja bakterija *B. japonicum* i sorte soje (Keyser i Li 1992.; Zimmer i sur. 2016.).

Prosječan broj biljaka po metru kvadratnom je iznosio 43,4 biljke (Tablica 2.). Najveći sklop biljaka je ostvaren na petom tretmanu (M) gdje je primijenjena inokulacija sjemena mikoriznim gljivama, dok je najmanji sklop ostvaren na drugom tretmanu (N) gdje su za inokulaciju sjemena korištene nesimbiotske bakterije (Tablica 2.). Za promatrani parametar nisu ustanovljene statistički značajne razlike između pojedinih tretmana. Nadalje, veći broj biljaka po metru kvadratnom nije znatno utjecao na povećanje prinosa zrna soje na što ukazuje i izrazito niska pozitivna korelacijska vrijednost prikazana grafikonom 1.B. ( $r = 0,0748$ ). Ova činjenica ukazuje na mogućnost pojačanog grananja biljke soje u slučaju rjeđeg sklopa, ovisno o grupi zriobe te o sortama unutar iste grupe zriobe, što znači da rjeđi sklop ne mora isključivo značiti i niži prinos zrna soje. Vratarić i Sudarić (2000.) navode da ukoliko sorta raspolaže većim genetičkim potencijalom za visinu, grananje i bujnost, treba je sijati rjeđe. Isti autori smatraju da u pregustim usjevima može doći do prijevremenog žućenja i odumiranja donjih dijelova biljke što rezultira smanjenjem intenziteta fotosinteze, a što u konačnici može utjecati negativno na prinos zrna i komponente prinosa.

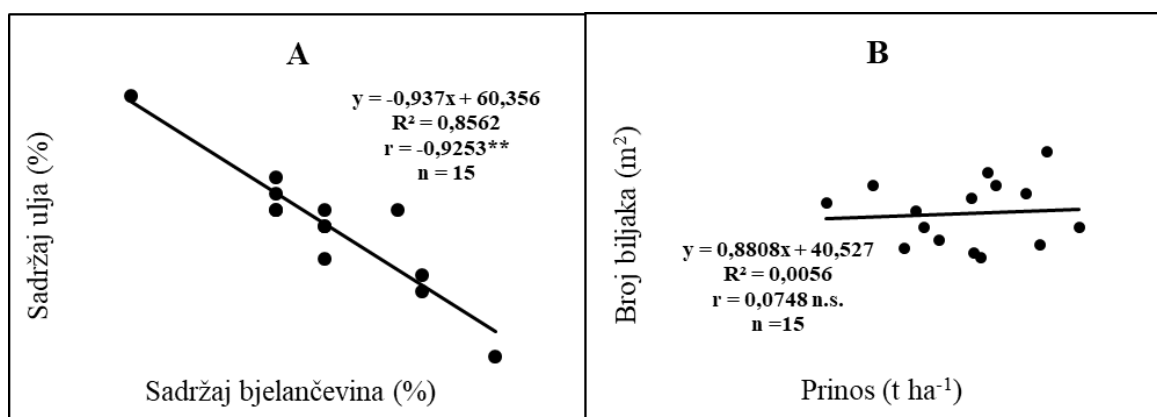
Tablica 2. Utjecaj tretmana na prinos, broj biljaka te kakvoću zrna soje

Tretman	Prinos ( $\text{t ha}^{-1}$ )	Broj biljaka ( $\text{m}^2$ )	Ulje (%)	Bjelančevine (%)	Ukupno iskorištenje (%)
K	2,99	47,0	22,47	40,47	62,93
N	3,54	37,7	22,17	40,97	63,13
R	2,80	39,7	22,33	40,53	62,87
H	3,70	43,7	22,20	40,63	62,83
M	3,27	49,0	22,50	40,40	62,90
Prosjek pokusa	3,26	43,40	22,33	40,60	62,93
LSD 5%	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tretmani: 1. Kontrola (K), 2. Bakterizacija sjemena nesimbiotskim bakterijama (N), 3. Bakterizacija sjemena preparatom RizoliqTop (R), 4. Bakterizacija sjemena preparatom HiCoat® Super (H), 5. Inokulacija sjemena mikoriznim gljivama (M).

Prosječan sadržaj ulja u zrnju soje po tretmanima kretao se od 22,20 % do 22,50 %, s tim da je najveći sadržaj postignut na petom tretmanu (M) gdje je izvršena inokulacija sjemena mikoriznim gljivama, dok je najniži sadržaj ostvaren na drugom tretmanu (N) gdje je obavljena bakterizacija nesimbiotskim bakterijama (Tablica 2.). Suprotno navedenom, najveći sadržaj bjelančevina (40,97 %) postignut na drugom tretmanu (N), a najniži (40,40

%) na petom tretmanu. Rezultati ovog istraživanja potvrđuju negativnu korelaciju između sadržaja ulja i sadržaja bjelančevina u zrnu soje koja u ovom slučaju iznosi  $r = -0,9253$  te ukazuje na vrlo jaku povezanost promatranih parametara (Grafikon 1. A.). Slične rezultate navode i drugi autori (Popovic i sur., 2013.; Jović i sur., 2018.). Nadalje, pretpostavka je kako su nesimbiotske bakterije utjecale na pojačano usvajanje hraniva od strane biljke te tako i na povećanje sadržaja bjelančevina u zrnu soje što je u skladu s rezultatima istraživanja drugih autora (Antunović i sur., 2012.; Kristek i sur., 2015.; Yin i sur., 2016.). Najveće ukupno iskorištenje ostvareno je na drugom tretmanu (63,13%) gdje je izvršena bakterizacija sjemena soje nesimbiotskim bakterijama, dok je najniža vrijednosti ukupnog iskorištenja (62,83%) ustanovljena na četvrtom tretmanu (H) gdje je korišten preparat HiCoat® Super. Između pojedinih tretmana nisu utvrđene statistički značajne razlike sadržaja ulja i bjelančevina te ukupnog iskorištenja zrna soje (Tablica 2.).



Grafikon 1. Prikaz jednostavne linearne regresije te korelacijskog koeficijenta između (A) sadržaja ulja (%) i sadržaja bjelančevina (%) te (B) broja biljaka (m<sup>2</sup>) i prinosa (t ha<sup>-1</sup>)

## Zaključak

Primjena mikoriznih gljiva, nesimbiotskih bakterija te preparata HiCoat® Super je utjecala na povećanje prinosa zrna soje za 9,4%, 18,4%, odnosno 23,7%, u odnosu na kontrolni tretman. Bakterizacija sjemena soje rezultirala je povećanjem sadržaja bjelančevina, a inokulacija sjemena mikoriznim gljivama povećanjem sadržaja ulja u zrnu soje. Nadalje, kvržične bakterije uočene su na svim tretmanima iako je inokulacija istim izostala na pojedinim tretmanima što ukazuje na autohtone sojeve kvržičnih bakterija koji su prisutni u tlu.

## Literatura

- Antunović M., Rastija M., Sudarić A., Varga I., Jović J. (2012). Response of soybean to phosphorus fertilization under drought stress conditions. *Növénytermelés*. 61 (2): 117-120.
- De Bruin J.L., Pedersen P., Conley S.P., Gaska J.M., Naeve S.L., Kurle J.E., Elmore R.W., Giesler L.J., Abendroth L.J. (2010). Probability of yield response to inoculants in fields with a history of soybean. *Crop Science*. 50 (1): 265–272.
- DZS – Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske (2020). Priopćenje 1.1.17. [www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2020/01-01-17\\_01\\_2020.htm](http://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2020/01-01-17_01_2020.htm) [pristupljeno 4.2.2021.].
- Egamberdiyeva D., Qarshieva D., Davranov K. (2004). Growth and yield of soybean inoculated with *Bradyrhizobium* spp in calcareous soil. *Biology and Fertility of Soils*. 40 (24):144-146.
- FAOSTAT (2020). [www.fao.org/faostat/en/#data/QC](http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC) [pristupljeno 28.9.2020.].
- Hungria M., Nogueira M., Araujo R. (2015). Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: a new biotechnological tool to improve yield and sustainability. *American Journal of Plant Sciences*. 6 (6): 811–817.



- Jović J., Kristek S., Guberac V., Popović B., Horvat D., Bešlo D., Romić I., Prakatur B., Ivanković I., Ivezić V. (2018.). Utjecaj gnojidbe i mikrobiološkog preparata na sadržaj ulja i bjelančevina u zrnu soje. Zbornik radova 53. hrvatskog i 13. međunarodnog simpozija agronoma. Rozman V., Antunović Z. (ed.). 289-293. Osijek, Republika Hrvatska: Sveučilište J.J. Strossmayer u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
- Keyser H. H., Li F. D. (1992). Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. *Plant and Soil*. 141: 119–135.
- Kristek S., Kristek A., Kraljićak Ž., Jović J., Antinac I. (2015). Utjecaj nitrofikirajućih bakterija na elemente prinosa i kvalitete soje. Zbornik radova 50. hrvatskog i 10. međunarodnog simpozija agronoma. Pospisil M. (ed.). 84-88. Zagreb, Republika Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.
- Mehnaz S., Weselowski B., Aftab F., Zahid S., Lazarovits G., Iqbal J. (2009). Isolation, characterization, and effect of fluorescent pseudomonads on micropropagated sugarcane. *Canadian Journal of Microbiology*. 55 (8): 1007–1011.
- Popovic V., Miladinovic J., Tatic M., Djekic V., Dozet G., Đurić V., Grahovac N. (2013). Stability of soybean yield and quality components. *African Journal of Agricultural Research*. 8 (45): 5651-5658.
- Sharma K.M., Kumawat D. M. (2011). A study on evaluation of nitrogen fixation potential in soybean cultivar using commercial and indigenous strains. *European Journal of Experimental Biology*. 1 (4): 93-97.
- Solomon T., Mohan L., Angaw T. (2012). Effect of inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* strains on nodulation, nitrogen fixation, and yield of soybean (*Glycine max* L. Merrill.) varieties on nitisols of Bako, Western Ethiopia. *ISRN Agronomy*. (2012): 1-8.
- Vrataric M., Sudaric A. (2000). Soja *Glycine max* (L.) Merr. Poljoprivredni institut Osijek, Osijek.
- Yin X., Bellaloui N., McClure A. M., Tyler D. D., Mengistu A. (2016). Phosphorus fertilization differentially influences fatty acids, protein, and oil in soybean. *American Journal of Plant Sciences*. 7 (14): 1975-1992.
- Zimmer S., Messmer M., Haase T., Piepho P. H., Mindermann A., Schulz H., Habekuß A., Ordon F., Wilbois K. P., Heß J. (2016). Effects of soybean variety and *Bradyrhizobium* strains on yield, protein content and biological nitrogen fixation under cool growing conditions in Germany. *European Journal of Agronomy*. 72: 38–46.

## The influence of microbial seed treatment inoculants on yield and quality of soybean

### Abstract

Due to high oil and protein content, soybean is the most important legume in arable land around the world. Given that, pre-sowing seed inoculation is a common measure in soybean production. The aim of this study was to compare the influence of four different microbial seed inoculants on soybean grain yield and quality. The highest yield (3.37 t ha<sup>-1</sup>) was achieved by inoculation of seeds with HiCoat®Super, while the highest oil (20.50%) and protein (40.97%) contents were achieved by inoculation of seeds with mycorrhizal fungi and non-symbiotic bacteria, respectively. No statistically significant differences were found for the observed parameters, while a negative correlation was found for the oil and protein content ( $r = -0.9253$ ).

**Key words:** soybean, seed inoculation, oil content, protein content, microbial preparation

## Utjecaj NPK, učestalosti i količine jesenske primjene stajskog gnoja na prinos krme poluprirodnog travnjaka

Marina Vranić<sup>1</sup>, Krešimir Bošnjak<sup>2</sup>, Matea Županović<sup>3</sup>, Anja Novak<sup>3</sup>, Ines Lisjak<sup>3</sup>, Diana Brozić<sup>2</sup>, Tomislav Mašek<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za specijalnu proizvodnju bilja, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (kbosnjak@agr.hr)

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu Veterinarski fakultet, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>studentica Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj jesenske primjene krutog stajskog gnoja (KSG) i standardne gnojidbe mineralnim gnojivima na prinos suhe tvari (ST) krme poluprirodnog travnjaka. Istraživano je ukupno pet gnojidbenih tretmana: (i) 30t KSG ha<sup>-1</sup> svake godine (SG), (ii) 50 t KSG ha<sup>-1</sup> SG, (iii) 30 t KSG ha<sup>-1</sup> svake treće godine (STG), (iv) 50 t KSG ha<sup>-1</sup> STG i (v) klasična gnojidba mineralnim gnojivima. Najveći prinos ST (10,04 t ha<sup>-1</sup>) je utvrđen primjenom mineralnih gnojiva (P<0,05). Najefikasnija je bila gnojidba KSG s 50 t ha<sup>-1</sup> SG (9,30 t ha<sup>-1</sup>), zatim s 30 t KSG ha<sup>-1</sup> SG nakon čega gnojidba s 50 t KSG ha<sup>-1</sup> STG, a najmanje efikasna (5,37 t ha<sup>-1</sup>) je bila gnojidba s 30 t KSG ha<sup>-1</sup> STG.

**Ključne riječi:** poluprirodni travnjak, kruti stajski gnoj, prinos krme

### Uvod

Poluprirodni ili sekundarni travnjaci su travnjaci nastali kao rezultat čovjekova djelovanja. Zauzimaju 40,59 % ukupne korištene poljoprivredne površine RH (DZS, 2018.), pa su značajan krmni resurs. Međutim, uglavnom su niske produktivnosti, koja se primjenom nekih od agrotehničkih zahvata, poput gnojidbe, može povećati (Štybnarova i sur., 2014.).

Organska gnojiva sadrže dosta organske tvari (OT) i malu koncentraciju mikro i makro hraniva, dok anorganska (mineralna) gnojiva imaju veću koncentraciju osnovnih hranjiva i ne sadrže organske spojeve (Gašpar, 1996.). Primjena anorganskih gnojiva je efikasnija od primjene organskih gnojiva jer izravno osigurava hranjiva za biljke i mikroorganizme tla, ali se za njihovu proizvodnju koristi puno energije dobivene iz fosilinih goriva te se lako se gube iz tla ispiranjem nitrata (FAO, 2017.). Hranjiva iz organskih gnojiva su biljkama dostupna nakon mikrobiološkog procesa mineralizacije organskih sastojaka (Bašić i Herceg, 2010.), pa dugoročno poboljšavaju kemijske, fizikalne i mikrobiološke značajke tla (Zheng i sur., 2010.; Wang, 2014.). Organska gnojiva u usporedbi s mineralnim povećavaju sadržaj OT u tlu, te vodni i vodozračni kapacitet tla (Zheng i sur., 2010.; Wang, 2014.; FAO, 2017.), podržavaju održivost poljoprivrednih ekosustava (Zheng i sur., 2010.), pa ih se preporuča koristiti (Ulen, 1993.) posebno u ekološkom uzgoju (Lamkin, 1990.). Radi varijacija kemijskog sastava krutog stajskog gnoja (KSG), u usporedbi s mineralnim gnojivima, teže je optimizirati gnojidbu travnjaka obzirom na učestalost primjene i primjenjenu količinu (Thomas i Xiyang, 2017.; Kim i sur., 2014.). Gnojidba brdsko planinskih poluprirodnih travnjaka KSG može povećati prinos suhe tvari (ST) travnjaka za 0,5-2,5 t ha<sup>-1</sup> što je izraženije u sušnijim vegetacijskim sezonama (Julianna i sur., 2013.). Prinos ST travnjaka se može povećati sa 2,5 t ha<sup>-1</sup> bez gnojidbe na 6.0 t ha<sup>-1</sup> sa primjenom 60 t KSG ha<sup>-1</sup> godišnje (Dijk i sur., 1990.). Hipoteza istraživanja je bila da učestalija gnojidba travnjaka većom

količinom KSG daje veći prinos ST krme poluprirodnog travnjaka. Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj dvije učestalosti jesenske primjene različitih količina KSG i jesenske standardne gnojidbe mineralnim gnojivima na prinos ST krme poluprirodnog travnjaka.

### Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na pokusnim površinama pokušališta Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta Centar za travnjaštvo smještenog na 638 m nadmorske visine u Parku prirode Medvednica. Na poluprirodnom travnjaku zajednice *Arhenatheretum medioeuropaeum ruderale* provedeno je istraživanje gnojidbenih tretmana u razdoblju od 2003. – 2014. godine. Pokus je postavljen po slučajnom bloknom rasporedu s pet tretmana gnojidbe za 2004 i 2014 godinu: 30 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku jesen (tretman A); 50 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku jesen (tretman B); 30 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku treću jesen (tretman C); 50 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku treću jesen (tretman D); 0 t KSG ha<sup>-1</sup> + NPK (8:26:26) i KAN svaku jesen (tretman E). KSG je ručno ravnomjerno raspoređen grabljama po parcelama površine 12 m<sup>2</sup>, dimenzija 6 x 2 m. Razmak između parcela je bio 50 cm. Organska gnojidba bazirana na 30 t KSG ha<sup>-1</sup> je iznosila 36 kg KSG parcela<sup>-1</sup>, a na 50 t KSG ha<sup>-1</sup> je iznosila 60 kg parcela<sup>-1</sup>. Mineralna gnojidba bazirana na 500 kg NPK ha<sup>-1</sup> je iznosila 0,6 kg NPK parcela<sup>-1</sup>, a na 600 kg KAN-a ha<sup>-1</sup> je iznosila 0,72 kg KAN-a parcela<sup>-1</sup>. Pokusne parcele su košene samohodnom grebenastom kosilicom 2004. i 2014 godine. Košnja je obavljena u početku metličanja dominantnih trava na visinu od 5 cm od razine tla. Tijekom vegetacijske sezone su skinuta po 4 otkosa krme. Kosilicom je zahvaćena traka (zahvat kosilice) širine 1,2 m po sredini pokusne parcele kako bi se izbjegao rubni utjecaj parcele na prinos krme. Pokošena biljna masa je sakupljena na šatorska krila, vagana visećom digitalnom vagom. Uzorak zelene biljne mase (oko 500 g) je sušen na temperaturi od 60°C do konstantne mase radi utvrđivanja sadržaja ST, odnosno prinosa ST po jedinici površine. U uzorcima KSG je utvrđen kemijski sastav u laboratoriju Zavoda za ishranu bilja Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta. Rezultati su obrađeni u statističkom programu SAS (SAS Institut, 1997.) koristeći MIXED proceduru. Prosječna primijenjena količina N, P i K hranjiva gnojidbom je prikazana u Tablici 1.

Tablica 1 Prosječna primijenjena količina N, P i K hranjiva gnojidbenim tretmanima (kg ha<sup>-1</sup>)

Hranjivo	kruti stajski gnoj				Mineralno gnojivo
	2003. godine		2013. godine		
	50 t ha <sup>-1</sup>	30 t ha <sup>-1</sup>	50 t ha <sup>-1</sup>	30 t ha <sup>-1</sup>	
N	177	106,2	295	177	202
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	59,1	35,46	12,9	7,74	130
K <sub>2</sub> O	81	48,6	20,4	12,24	130

### Rezultati i rasprava

U Tablici 2 je prikazan prosječan prinos ST krme poluprirodnog travnjaka istraživanih gnojidbenih tretmana.

Tablica 2 Prosječan prinos suhe tvari krme poluprirodnog travnjaka istraživanih gnojidbenih tretmana (t ha<sup>-1</sup>)

Gnojidbeni tretman	Prosjek	2004	2014
A	8,30 <sup>c</sup>	8,29 <sup>b</sup>	8,27 <sup>b</sup>
B	9,30 <sup>b</sup>	9,72 <sup>a</sup>	8,72 <sup>b</sup>
C	5,37 <sup>e</sup>	5,34 <sup>d</sup>	5,39 <sup>c</sup>
D	6,31 <sup>d</sup>	6,97 <sup>c</sup>	5,64 <sup>c</sup>
E	10,04 <sup>a</sup>	10,37 <sup>a</sup>	9,73 <sup>a</sup>
P	*	*	*
SEM	0,341	0,593	0,597

A, primjena 30 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku jesen; B, primjena 50 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku jesen; C, primjena 30 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku treću jesen; D, primjena 50 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku treću jesen; E, primjena 0 t KSG ha<sup>-1</sup> + NPK i KAN svaku jesen; SEM, standardna greška srednje vrijednosti; P, stupanj signifikantnosti, Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima statistički značajno se razlikuju (\*, P<0,05).

Utvrđen je veći prinos ST krme poluprirodnog travnjaka (tablica 2) primjenom gnojidbenih tretmana A i B u usporedbi s gnojidbenim tretmanima C i D (P<0,05). Utvrđen je veći prinos ST gnojidbenog tretmana B u usporedbi s ostalim gnojidbenim tretmanima KSG (P<0,05). Gnojidba mineralnim gnojivima je rezultirala većim prinosom ST u usporebi s gnojidbenim tretmanima primjene KSG bez obzira na količinu i učestalost primjene. Isto je u suglasju s ranijim istraživanjima (Gašpar, 1996.; FAO, 2017.). Mineralna gnojiva imaju veću koncentraciju osnovnih hranjiva (Gašpar, 1996.), te izravno osiguravaju hranjiva za biljke i mikroorganizme tla (FAO, 2017.). Hranjiva iz organskih gnojiva su biljkama dostupna nakon mikrobiološkog procesa mineralizacije organskih sastojaka (Bašić i Herceg, 2010.), pa organska gnojiva otpuštaju hranjiva kroz duži period i dugoročno poboljšavaju kemijske, fizikalne i mikrobiološke značajke tla (Zheng i sur., 2010.; Wang, 2014.).

U Tablici 3 su prikazane razlike u prinos ST krme po gnojidbenim tretmanima između godina istraživanja.

Tablica 3. Prinos ST krme između godina istraživanja (t ha<sup>-1</sup>) (SEM = 0,54)

Gnojidbeni tretman Fertilizing treatment	2004	2014	P
A	8,29	8,27	NS
B	9,72	8,72	NS
C	5,34	5,39	NS
D	6,97	5,64	*
E	10,37	9,73	NS

A, primjena 30 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku jesen; B, primjena 50 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku jesen; C, primjena 30 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku treću jesen; D, primjena 50 t KSG ha<sup>-1</sup> svaku treću jesen; E, primjena 0 t KSG ha<sup>-1</sup> + NPK i KAN svaku jesen; SEM, standardna greška srednje vrijednosti; P, stupanj signifikantnosti, Vrijednosti u istom retku označene različitim slovima statistički značajno se razlikuju (\*, P<0,05); NS, razlike između vrijednosti u istom retku nisu statistički značajne (P>0,05).

Utvrđen je niži prinos ST krme poluprirodnog travnjaka tretmana D nakon 10-o godišnje u usporedbi s jednogodišnjom primjenom KSG (tablica 3). Kod ostalih gnojidbenih tretmana nije bilo razlike u prinosu ST nakon prve i nakon 10-e godine provedbe istraživanja ( $P > 0,05$ ). Utvrđen je veći prinos ST krme poluprirodnog travnjaka gnojenog s 30 t KSG ha<sup>-1</sup> ili s 50 t KSG ha<sup>-1</sup> svake godine, a niži kod gnojidbe s 30 t KSG ha<sup>-1</sup> ili 50 t KSG ha<sup>-1</sup> svake treće godine u usporedbi s prinosom krme poluprirodnog travnjaka kod primjene 60 t KSG ha<sup>-1</sup> tijekom 11 godina koji je iznosio 6 t ST ha<sup>-1</sup> (Dijk i sur., 1990.). Kemijski sastav KSG-a se razlikuje između životinja, ali i od iste vrste životinja (tablica 1) te ovisi o vrsti, spolu i uzrastu domaće životinje, količini i kvaliteti krme korištene za hranidbu, načinu držanja, vrsti i količini primijenjene stelje, klimatskim prilikama te načinu skladištenja i manipulacije (Bašić i Herceg, 2010.). Na prinos ST krme, osim gnojidbe, značajan utjecaj ima botanički sastav tratine i vegetacijska sezona (Vranić i sur., 2004.; 2017.). Travnjak je idealan za primjenu, a time i za zbrinjavanje stajskog gnoja čime dolazi do recikliranja hranjiva i minimalnog nedostatka minerala u tlu (Knežević i sur., 2007.).

### Zaključak

Najveći prinos ST krme poluprirodnog travnjaka ostvaren je primjenom mineralnih gnojiva. Obzirom na primjenu KSG, u cilju ostvarivanja što višeg prinosa ST krme poluprirodnog travnjaka, najefikasnija je bila gnojidba s 50 t KSG ha<sup>-1</sup> u jesen svake godine, zatim s 30 t KSG ha<sup>-1</sup> u jesen svake godine, pa s 50 t KSG ha<sup>-1</sup> u jesen svake treće godine, a najmanje efikasna gnojidba s 30 t KSG ha<sup>-1</sup> u jesen svake treće godine.

### Literatura

- Bašić F., Herceg N. (2010). Temelji uzgoja bilja, Synopsis, Zagreb.
- Dijk T. A., Postmus J., Prins W. H. (1990). Long-term application of farmyard manure on grassland: effects on herbage yield and distribution of N and P in the soil profile. Conference paper : Soil-grassland-animal relationships. Proceedings of 13th general meeting of the European Grassland Federation, Banská Bystrica, Czechoslovakia, June 25-29.
- DZS (Državni Zavod za statistiku) (2018). Statistički ljetopis Republike Hrvatske. Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske: 588 str.
- FAO (Food and Agriculture Organization) (2017). Livestock Solutions for Climate Change. <http://www.fao.org/3/a-i8098e.pdf>, Accessed date: 9 February 2019.
- Gašpar I. (1996). Mineralna gnojiva i gnojidba bilja, INA Petrokemija d.o.o., Kutina.
- Julianna T., Pál P., Gábor T. (2013). First results of farmyard manure on hilly grassland. *Animal Welfare, Ethology and Housing Systems*, 9, 1: 61-75.
- Kim D. G., Rafique R., Leahy P., Cochrane M., Kiely G. (2014). Estimating the impact of changing fertilizer application rate, land use, and climate on nitrous oxide emissions in Irish grasslands. *Plant Soil* 374: 55–71.
- Knežević M., Leto J., Perčulija G., Bošnjak K., Vranić M. (2007). Effects of liquid manure application on yield, quality and botanical composition of grassland. *Cereal Research Communications* 35 (2): 637-640.
- Lamkin N. (1990). Management of manures, slurry and organic residues. In *Organic Farming*, pp. 86-124. Organic Farming Books; Ipswich.
- SAS Institute (1997). SAS/STAT software. Changes and enhancements through release 6.12. SAS Inst., Cary, NC.
- Štybnarova M., Mićova P., Fijala K., Karabcova H., Latal O., Pozdišek J. (2014). Effect of organic fertilizers on botanical composition of grassland, herbage yield and quality, Agrowyzkum Rapotin Ltd., Vyzkumniku 267, 788 13 Vykrovice, Czech Republic.
- Thomas B. W., Xiyang H. (2017). Nitrous oxide emitted from soil receiving anaerobically digested solid cattle manure. *Journal of Environmental Quality*, 46: 741–750.
- Ulen B. (1993). Losses of nutrients through leaching and surface runoff from manure-containing composts. *Biological Agriculture and Horticulture*, 10: 29-37.

- Vranić M., Knežević M., Perčulija G., Leto J., Bošnjak K., Rupić I. (2004.): Kvaliteta voluminozne krme na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima u Republici Hrvatskoj. Kvaliteta travne silaže na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. *Mljekarstvo*. 54 (3) 165-174.
- Vranić M., Bošnjak K., Leto J., Lukšić, B., Glavanović, S. (2017). Procjena prinosa suhe tvari krme poluprirodnog travnjaka NIR spektroskopijom. *Stočarstvo : časopis za unapređenje stočarstva*. 70, 1: 3-12.
- Wang J. (2014). Decentralized biogas technology of anaerobic digestion and farm ecosystem: opportunities and challenges. *Front. Energy Resources* 2.
- Zheng Y. H., Li Z. F., Feng S. F., Lucas M., Wu G. L., Li Y. (2010). Biomass energy utilization in rural areas may contribute to alleviating energy crisis and global warming: a case study in a typical agro-village of Shandong, China. *Renew. Sustainable Energy Review*, 14, 3132–3139.

## **The effect of frequency and quantity of autumn farm yard manure application on semi-natural grassland yield**

### **Abstract**

The aim of the study was to determine the effect of autumn application of farm yard manure (FYM) and standard fertilization with mineral fertilizers on the dry matter (DM) yield of semi-natural grassland. A total of five fertiliser treatments were investigated: (i) 30t FYM ha<sup>-1</sup> each year (EY), (ii) 50 t FYMG ha<sup>-1</sup> EY, (iii) 30 t FYM ha<sup>-1</sup> every third year (ETY), (iv) 50 t FYM ha<sup>-1</sup> and (v) classic mineral fertilizer application. The highest DM yield was determined by the application of mineral fertilizers (10.04 t ha<sup>-1</sup>) (P<0.05). The most effective was the FYM fertilization with 50 t FYM ha<sup>-1</sup> EY (9.30 t ha<sup>-1</sup>), then 30 t FYM ha<sup>-1</sup> EY after which fertilization with 50 t FYM ha<sup>-1</sup> ETY, and the least effective was fertilization with 30 t FYM ha<sup>-1</sup> ETY (5.37 t ha<sup>-1</sup>).

**Key words:** semi-natural grassland, farm yard manure, dry matter yield

## Analiza proizvodnje različitog povrća u uvjetima navodnjavanja

Vladimir Zebec<sup>1</sup>, Miroslav Dadić<sup>1</sup>, Irena Rapčan<sup>1</sup>, Tomislav Matančević<sup>2</sup>, Zoran Semialjac<sup>1</sup>, Domagoj Rastija<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska ([irapcan@fazos.hr](mailto:irapcan@fazos.hr))

<sup>2</sup>PIK Vinkovci plus, Matije Gupca 130, 32100 Vinkovci, Hrvatska

### Sažetak

Cilj ovog rada je analiza proizvodnje luka, graška i kukuruza šećerca tijekom 2020. godine na površinama na PIK Vinkovci plus d.o.o. u uvjetima navodnjavanja. Istraživanje je provedeno na lokalitetu Sopot. Obroci navodnjavanja određivani su u skladu s fazama rasta i potrebama biljaka za vodom te klimatskim prilikama. Prosječni prinosi luka bili su rasponu od 42 do 58 t/ha, ovisno o hibridu. Prosječni prinos graška bio je 5 t/ha, a kukuruza šećerca 12 t/ha.

**Ključne riječi:** luk, grašak, kukuruz šećerac, navodnjavanje, obroci navodnjavanja

### Uvod

Lokalitet Sopot je smješten uz rijeku Bosut i rubne dijelove grada Vinkovaca te ima dugu tradiciju poljoprivredne proizvodnje. PIK Vinkovci plus d.o.o. (u vlasništvu Fortenova Grupe) obrađuje preko 5.000 ha površina na području Vukovarsko-srijemske županije, s raznolikom strukturom proizvodnje i mogućnostima skladištenja, prerade i dorade ubranih proizvoda. Primjenjuje nove tehnologije proizvodnje, ulaže u suvremenu agrotehniku i sustave navodnjavanja te povećava navodnjavane površine. Na ovom području nalaze se najvrjedniji resursi poljoprivrednog tla u Hrvatskoj (Husnjak i Bensa, 2018.), ali se i povremeno pojavljuje suša (Šimunić i sur., 2007.). Proučavana je proizvodnja luka, graška i kukuruza šećerca, povrćarskih kultura koje se obavezno uzgajaju uz navodnjavanje. Cilj ovog rada je prikazati prinose luka, graška i kukuruza šećerca tijekom 2020. godine na lokalitetu Sopot.

### Materijal i metode

Na površinama na kojima je uzgojan luk (*Allium cepa* L.), predusjevi su bili pšenica, soja i kukuruz šećerac, pa je u jesen izvršeno duboko oranje, osnovna gnojidba (na osnovi analize tla) i tanjuranje. Predsjetvena priprema započela je krajem prve dekade ožujka. Kako se sjeme luka polaže na 1,5 - 2 cm dubine, posebna pozornost posvećena je odgovarajućoj pripremi sjetvenog sloja. Sjetva luka obavljena je od 19. 03. - 01.04. 2020. na ukupno 164 ha. Nakon sjetve započinje navodnjavanje s ciljem poticanja klijanja i nicanja luka. Predsjetvena gnojidba provedena je u skladu sa stanjem hraniva u tlu. U cilju zaštite usjeva primijenjeni su odgovarajući fungicidi, insekticidi i korektivni herbicidi. Vađenje luka trajalo je od 10. 08. - 15. 09. 2020. Nakon usitnjavanja lista, glavice luka izvađene su specijalnim vadilicama te ostavljene u trakama 2 - 3 dana da se prosuše. Grašak (*Pisum sativum* L.) je uzgajan nakon kukuruza šećerca te je nakon berbe ove kulture provedeno usitnjavanje žetvenih ostataka i podrivanje, a sredinom rujna raspodjela hraniva (na osnovi analize tla), duboko oranje i tanjuranje. Sredinom ožujka dodana su hraniva, površina pripremljena za sjetvu i postavljen sustav navodnjavanja. Sjetva graška obavljena je od 25. 04. - 11. 05. 2020. na ukupno 178 ha. Provedeno je jedno tretiranje zemljišnim herbicidom

i jedno korektivnim herbicidom. Grašak je ubiran od 08. - 15. 07. 2020., ovisno o roku sjetve i sazrijevanju kulture (ispitivanje na tenderometru).

Kukuruz šećerac (*Zea mays* L. var. *saccharata* Sturt) je uzgajan na 97 ha, s proljetnim lukom kao predusjevom. Podrivanje i oranje izvršeni su početkom listopada uz osnovnu gnojdbu (na osnovi analize tla). Zimska brazda zatvorena je krajem ožujka, a od 21. - 30. 04., prije pripreme tla, primijenjena su predsjetvena gnojiva. Sjetva je izvršena od 18. - 25. 05. 2020. Tijekom druge dekade lipnja izvršene su prihrana, dvije kultivacije i mjere zaštite od bolesti i štetnika. Berba kukuruza šećerca obavljena je od 24. - 28. 08. 2020. godine. Za sve sustave navodnjavanja izvršene su potrebne aktivnosti na dovodu vode do polja postavljanjem crpnog agregata i zahvatu vode rijeke Bosut te transporta vode dovodnim cjevovodom od vodozahvata do prijemnog kanala u polju. Linijski sustav za navodnjavanje kretanjem uz kanal crpi vodu, samohodni sektorski rasprskivač i bočno kišno krilo (BK-sustav) spojeni su cjevovodom kojim se voda doprema pod određenim radnim tlakom. Najviše aktivnosti u pripremi zahtijeva BK-sustav, a posebno u formiranju i uklapanju bočnih kišnih krila u veličinu odabrane površine. Luk je na 73 ha navodnjavan linijskim sustavom, na 64 ha mikrorasprskivačima i na 27 ha BK-sustavom. Grašak je na 148 ha navodnjavan linijskim sustavom, a na 30 ha samohodnim sektorskim rasprskivačem. Kukuruz šećerac je na 55 ha navodnjavan linijskim sustavom, a na 42 ha samohodnim sektorskim rasprskivačem. Trenutak početka navodnjavanja i količinu dodane vode određuju tehnolozi na temelju potreba pojedinog usjeva za vodom i klimatskim prilikama. Vrijednosti klimatskih parametara (srednja temperatura i relativna vlažnost zraka, količina oborina te smjer i brzina vjetra) tehnolozi očitavaju preko instalirane meteorološke postaje (Weather Hub TFA Dostman).

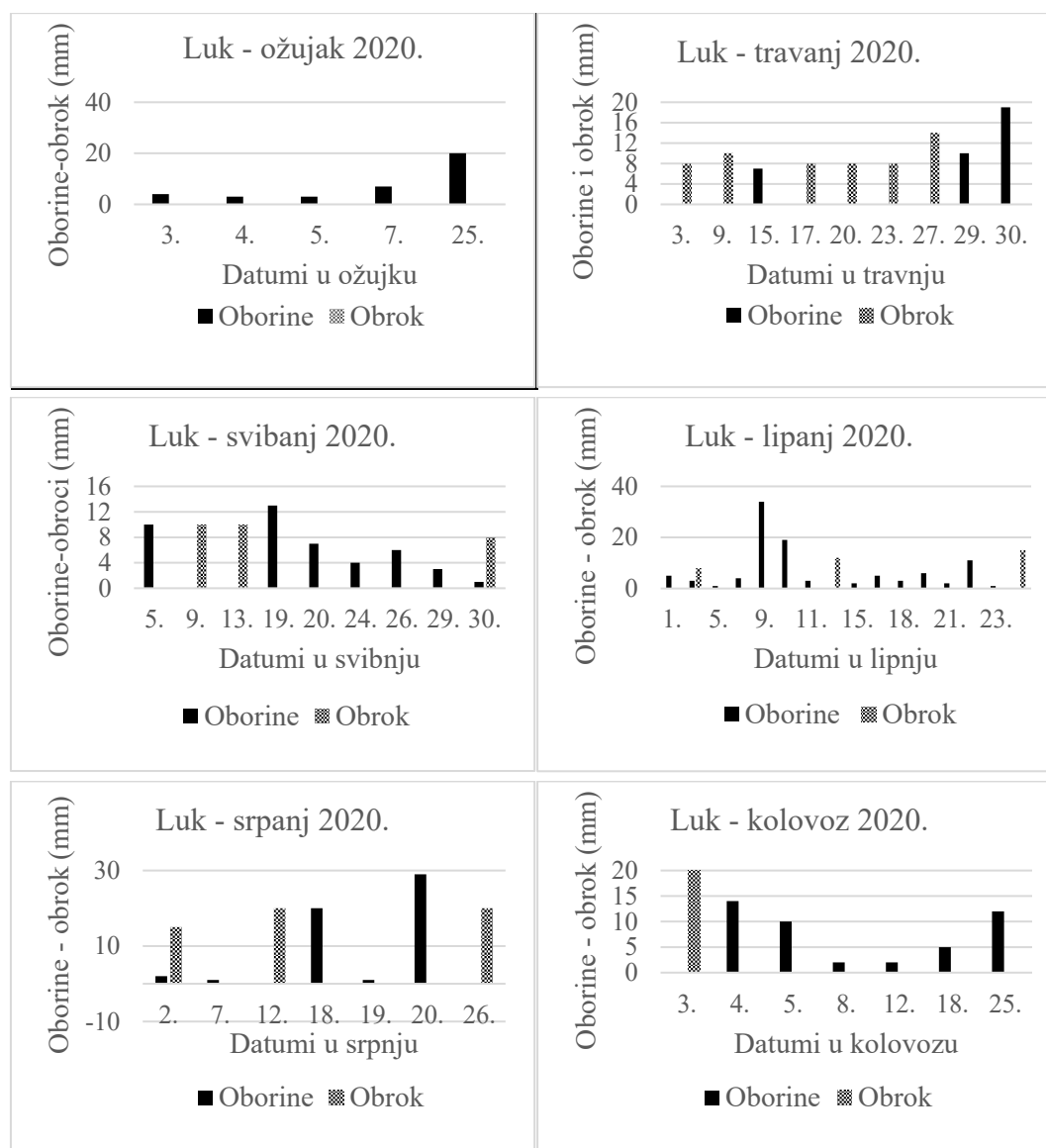
## Rezultati i rasprava

U proizvodnji luka direktnom sjetvom je posebno važno postići ujednačeno nicanje. Luk se sije prilično plitko, a kako sjetveni sloj ne smije biti suh (Lešić i sur., 2016.), neizostavno je učestalo lagano kišenje u razdoblju od 15-tak dana nakon sjetve. Sjemenu prijeto opasnost da ostane u suhom tlu (čak i ako je položeno na vlažnu podlogu), čemu u pravilu doprinose jaki i učestali proljetni vjetrovi, pa se odmah mora započeti s navodnjavanjem (Dadić i sur., 2007.). Srednje mjesečne temperature zraka, mjesečne oborine i realizirani obroci navodnjavanja prikazani su u Tablici 1., a obroci navodnjavanja Grafikonom 1.

Tablica 1. Pregled zabilježenih srednjih mjesečnih temperatura zraka, mjesečnih oborina i realiziranih obroka navodnjavanja u 2020. godini

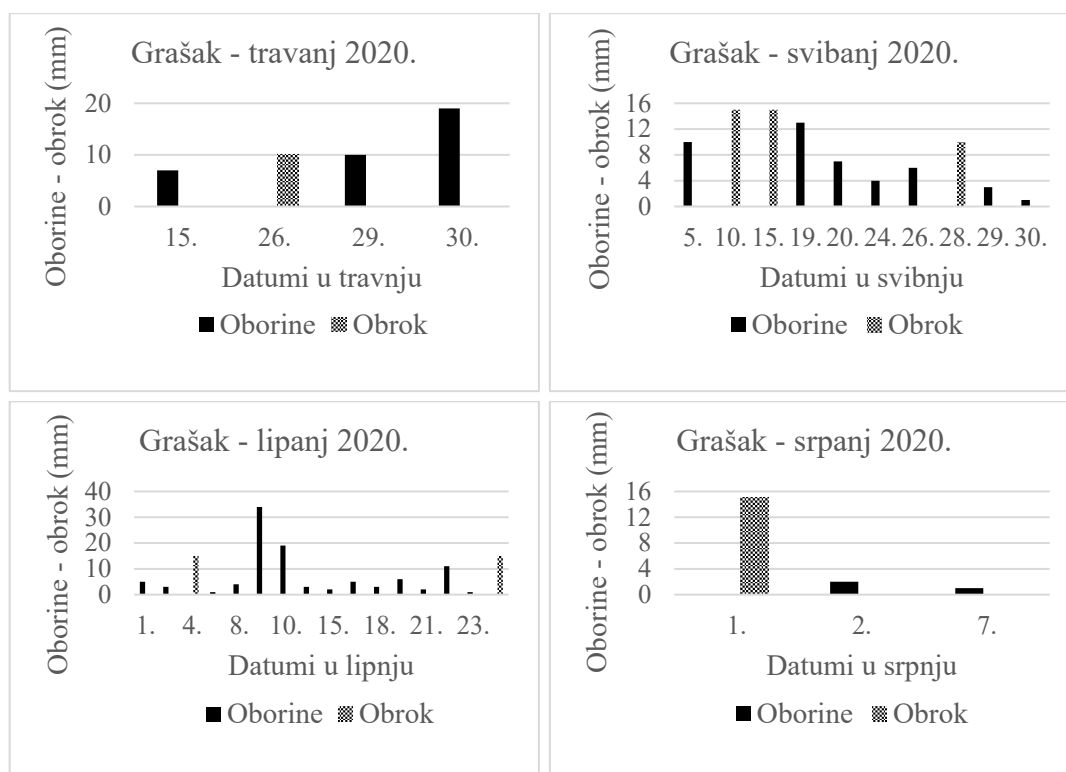
	Mjeseci vegetacije						
	III	IV	V	VI	VII	VIII	
Kultura	Srednje mjesečne temperature zraka, °C						
	7,8	13,0	16,0	20,8	23,1	24,0	
	Ukupne mjesečne oborine (mm)						
	37,0	36,0	44,0	99,0	53,0	45,0	
	Ukupni mjesečni obroci navodnjavanja (mm)						
Ukupno	-	52,0	28,0	35,0	55,0	20,0	190,0
Luk	-	10,0	40,0	30,0	15,0	-	95,0
Grašak	-	-	-	15,0	60,0	10,0	85,0
Kukuruz šećerac	-	-	-	15,0	60,0	10,0	85,0



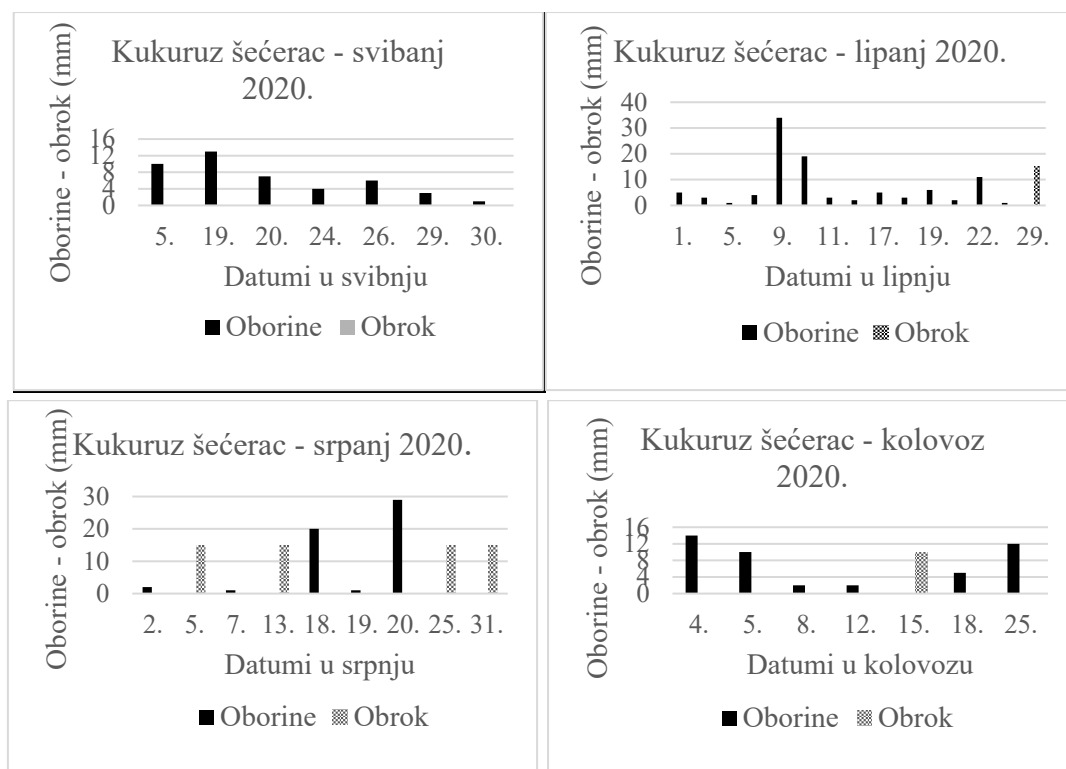


Grafikon 1. Oborine i obroci navodnjavanja u vegetaciji luka

Kritično razdoblje potreba za vodom graška je u vrijeme i desetak dana nakon cvatnje te je naznačenim sustavima navodnjavanja dodana voda u potrebnom vremenu (Grafikon 2.). U vrijeme klijanja, nicanja te početnog porasta kukuruza šećerca (svibanj – lipanj) nije bilo potrebe za navodnjavanjem, jer je količina oborina bila dostatna. Voda je dodavana u obrocima od 15 mm (Grafikon 3.), čime je osiguran optimalan rast i razvoj ove kulture. Primjenom navodnjavanja utječemo na neravnomjeran raspored oborina i dugotrajnih sušnih razdoblja koja umanjuju količinu i kvalitetu prinosa (Benković i sur., 2018.). Kemble i Sanders (2000.) navode da je tolerantnost na sušu luka i graška niska te da zahtijevaju obavezno navodnjavanje, dok je kod kukuruza šećerca umjerena te zahtijeva navodnjavanje u većini godina. U proizvodnji luka je, s obzirom na dužinu vegetacije (od ožujka do rujna) dodana najveća količina vode navodnjavanjem (190 mm), što uz oborine iznosi 504 mm.



Grafikon 2. Oborine i obroci navodnjavanja u vegetaciji graška



Grafikon 3. Oborine i obroci navodnjavanja u vegetaciji kukuruza šećerca

U vegetaciji graška (od travnja do lipnja) palo je ukupno 179 mm oborina, što uz navodnjavanje od 95,0 mm daje ukupnu količinu vode od 274 mm. Kukuruz šećerac je navodnjavan s 85,0 mm, a u vegetaciji ove kulture (od svibnja do kolovoza) palo je 241 mm oborina, što zajedno daje

326 mm vode. Ostvareni prosječni prinosi luka kretali su se od 42-58 t/ha ovisno o hibridima, što je znatno više od prinosa koje navode Todorović i sur. (2003.). Prosječni prinos graška iznosio je 5 t/ha, što je u skladu s navodima Jurišića (2009.), dok je prinos kukuruza šećerca bio 12 t/ha, što je unutar raspona koji navode Lešić i sur. (2016.).

### Zaključak

Povrčarske kulture, poput luka, graška i kukuruza šećerca, zahtijevaju intenzivnu proizvodnju uz obavezno navodnjavanje. Na površinama PIK Vinkovci, na lokalitetu Sopot, primijenjene su sve potrebne agrotehničke mjere, a obroci navodnjavanja određivani su prema fazama rasta biljaka, potrebama biljaka za vodom i klimatskim prilikama. Sve navedeno rezultiralo je prosječnim prinosima luka, ovisno o uzgajanom hibridu, od 42-58 t/ha, s ukupno 164 ha te prosječnim prinosom graška od 5 t/ha (sa 178 ha) i kukuruza šećerca od 12 t/ha (s 97 ha).

### Literatura

- Benković R., Japundžić-Palenkić B., Benković Lačić, T. (2018). Upoznatost slavonskih poljoprivrednika s meliorativnim zahvatima i njihovim utjecaju na stabilnost prinosa. *Agronomski glasnik*, 3: 187-190.
- Dadić M., Šoštarčić J., Božić-Sumrak B., Madjar, S. (2007). Proizvodnja luka (*Allium cepa* L.) u uvjetima navodnjavanja. Objavljeno u *Zbornik radova 42. hrvatskog i 2. međunarodnog znanstvenog simpozija agronoma*, Pospišil (ur.), 357-360. Opatija, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Husnjak S., Bensa A. (2018). Pogodnost poljoprivrednog zemljišta za navodnjavanje u agroregijama Hrvatske. *Hrvatske vode*, 26 (105): 157-180.
- Jurišić M. (2009). AgBase – priručnik za uzgoj bilja. II. Tehnologija (agrotehnika) važnijih povrčarskih kultura. Sveučilište J.J. Strossmayer u Osijeku, Poljoprivredni fakultet Osijek, Osijek.
- Kemble J. K., Sanders D. C. (2000). Basics of Vegetable Crop irrigation. Dostupno na: <https://www.irrometer.com/pdf/research/ANR-1169.pdf>
- Lešić R., Borošić J., Butorac I., Herak Ćustić M., Poljak M., Romić, D. (2016). Povrčarstvo (III. Dopunjeno izdanje). Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu, Agronomski fakultet Zagreb, Zrinski d.d., Čakovec.
- Šimunić I., Pandžić K., Ivančan Picek B., Bogunović M., Husnjak S. (2007): Analiza manjka vode za razne biljne kulture. *Agronomski glasnik*, 3: 167-177.
- Todorović J., Lazić B., Komljenović I. (2003): Ratarsko-povrtnarski priručnik. GrafoMark, Laktaši.

## Analysis of different vegetables production under irrigation conditions

### Abstract

The aim of this paper is to analyze the production of onion, pea and sweet corn during the production year 2020 on the areas at PIK Vinkovci plus d.o.o. under irrigation conditions. The research was conducted at the Sopot site. Irrigation meals were determined according to plant growth stages, climatic conditions and soil condition. Average onion yields ranged from 42-58 t ha<sup>-1</sup> depending on the hybrid. The pea average yield was 5 t ha<sup>-1</sup>, and sweet corn 12 t ha<sup>-1</sup>.

**Key words:** onion, pea, sweet corn, irrigation, irrigation meals



## **Agroekonomika i ruralni razvoj**

# **02**

**Agricultural Economics  
and Rural Development**



## Percepcija nositelja poljoprivrednih gospodarstava o utjecaju i posljedicama klimatskih promjena

Tajana Čop<sup>1</sup>, Ana Čehić<sup>2</sup>, Mario Njavro<sup>1</sup>, Martina Begić<sup>2</sup>, Smiljana Goreta Ban<sup>3</sup>, Josip Juračak<sup>1</sup>, Milan Oplanić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za menadžment i ruralno poduzetništvo, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska*

<sup>2</sup>*Institut za poljoprivredu i turizam, Zavod za ekonomiku i razvoj poljoprivrede, Karla Huguesa 8, Poreč, Hrvatska (acehic@iptpo.hr)*

<sup>3</sup>*Institut za poljoprivredu i turizam, Zavod za poljoprivredu i prehranu, Karla Huguesa 8, Poreč, Hrvatska*

### Sažetak

Cilj rada je istražiti percepciju nositelja poljoprivrednih gospodarstava o utjecaju i posljedicama klimatskih promjena na poslovanje poljoprivrednih gospodarstava. U radu je korišten anketni upitnik na prigodnom uzorku nositelja poljoprivrednih gospodarstava u Istarskoj i Primorsko-goranskoj županiji (N = 62). U analizi podataka korištene su jednosmjerna analiza varijance i Tukeyev post-hoc test. Zaključeno je kako varijable spol, godine, lokacija gospodarstva, razina obrazovanja i obrazovanje u području poljoprivrede nisu imale utjecaj na percepciju, dok su varijable proizvodnja na gospodarstvu i udio prihoda iz poljoprivrede u kućanstvu imale utjecaj na stupanj slaganja nositelja poljoprivrednih gospodarstava s nekoliko izjava o utjecaju klimatskih promjena.

**Ključne riječi:** klimatske promjene, poljoprivreda, biljna proizvodnja, percepcija

### Uvod

Klimatske promjene predstavljaju izazov za poljoprivrednu proizvodnju, a očituju se u povećanju temperature zraka, smanjenju količine oborina te sve učestalijoj pojavi prirodnih nepogoda kao što su suša, tuča, mraz i poplave (OECD, 2016.). Sveukupna potvrđena šteta od klimatskih promjena u Republici Hrvatskoj u 2019. godini iznosila je nešto više od 192 milijuna kuna, dok je rekordna godina obzirom na potvrđene štete u poljoprivredi 2017. godina kada su štete iznosile preko 2,3 milijardi kuna (Ministarstvo financija, 2020.). Klimatske promjene ne utječu samo na budućnost, nego i na sadašnjost (McCarl i Hertel, 2018.) te vode i ekonomskom gubitku države (Ministarstvo zaštite okoliša i energetike, 2017.), a posljedično i pojedinih poslovnih subjekata. Sve veći interes pojedinaca za klimatske promjene javio se nakon pojave toplinskog vala u Europi 2003. godine (Battaglini i sur., 2009.). Razna istraživanja ispitivala su percepcije poljoprivrednika o klimatskim promjenama, te su Battaglini i sur. (2009.) zaključili kako europski vinogradari percipiraju klimatske promjene i njihov utjecaj na kvalitetu grožđa, ali i na pojavu bolesti i štetnika. Abid i sur. (2015.) navode kako su poljoprivrednici svjesni klimatskih promjena, te kako 58 % poljoprivrednika prilagođava svoje poslovanje klimatskim promjenama. Arbuckle i sur. (2013.) pokazuju kako poljoprivrednici percipiraju klimatske promjene te su skloni prilagodbi poljoprivrede. S druge strane Arndal Woods i sur. (2017.) pokazuju kako su poljoprivrednici u Danskoj neutralni (51 %) oko utjecaja klimatskih promjena na poljoprivredu, te zaključuju da će se oni poljoprivrednici koji su više zabrinuti (14 %) prije prilagoditi na njihove negativne posljedice. Cilj ovog rada je istražiti kako nositelji poljoprivrednih gospodarstava percipiraju utjecaj i posljedice klimatskih promjena na poslovanje poljoprivrednih gospodarstava.

## Materijal i metode

Anketno ispitivanje provedeno je na prigodnom uzorku nositelja poljoprivrednih gospodarstava u Istarskoj i Primorsko-goranskoj županiji u razdoblju od listopada 2020. do siječnja 2021. godine. Odabir gospodarstava u uzorak proveden je uvažavajući kriterije ravnomojne teritorijalne i proizvodne distribucije za što su, kao podloga, korišteni podaci iz Upisnika poljoprivrednih gospodarstava (APPRRR, 2019.). Lista gospodarstava obuhvaćenih uzorkom formirana je temeljem kontakata s lokalnim poljoprivrednim udrugama. Svaki od proizvođača s liste je najprije telefonski kontaktiran od strane istraživača radi informiranja o postupku anketiranja i provjere mogućnosti sudjelovanja u istraživanju. Po pristanku ispitanika na sudjelovanje u istraživanju na njegovu adresu e-pošte poslan je link za pristup online upitniku. Ovakva metodologija primijenjena je zbog epidemioloških mjera s ciljem smanjenja osobnih kontakata. Online upitnik dizajniran je u platformi Office 365 - Google Forms. Upitnik se sastojao od nekoliko seta pitanja među kojima su bila pitanja o percepciji nositelja poljoprivrednih gospodarstava o utjecaju i posljedicama klimatskih promjena na poslovanje njihovih gospodarstava kao i pitanja o socio-demografskim i ekonomskim osobinama ispitanika. Izjave o percepciji preuzete su od Arbuckle i sur. (2015.), te su ocjenjivane na skali od 1 (potpuno neslaganje s izjavom) do 5 (potpuno slaganje s izjavom). Ukupno su prikupljena 62 ispravno ispunjena upitnika. U završenoj fazi istraživačkog postupka pristupalo se opisu uzorka, provjeri pouzdanosti predložene skale za mjerenje percepcije putem Cronbach alfa koeficijenta i provjeri postojanja razlika između socio - demografskih, ekonomskih osobina i percepcije ispitanika putem jednosmjerne analize varijance i post hoc Tukey testa na razini značajnosti  $p \leq 0,05$ . Navedeni statistički postupci provedeni su u statističkom programu SPSS ver. 26.

## Rezultati i rasprava

U anketiranom uzorku prevladavaju osobe muškog spola, u dobi od 31 do 60 godina, sa završenom srednjom školom. Udjeli ispitanika s obzirom na obrazovanje u području poljoprivrede su podjednaki. Većina ispitanika je iz Istarske županije, poljoprivreda im je dopunski izvor prihoda u kućanstvu te primjenjuju tehnologiju konvencionalne poljoprivrede (Tablica 1).

Tablica 1. Socio–demografska obilježja ispitanika (N = 62)

Varijabla		N	%
Spol	Ženski	20	32,3
	Muški	42	67,7
Dob, godine	Do 30	10	16,1
	31 – 45	22	35,5
	46 – 60	23	37,1
	61 i više	7	11,3
Razina obrazovanja	Srednja škola	29	46,8
	Preddiplomski studij	9	14,5
	Diplomski studij	18	29,0
	Poslijediplomski studij	6	9,7
Obrazovanje u području poljoprivrede	Da	30	48,4
	Ne	32	51,6
Lokacija gospodarstva	Istarska županija	43	69,4
	Primorsko-goranska županija	19	30,6
Udio poljoprivrede u	Jedini izvor prihoda	15	24,2

ukupnom prihodu kućanstva	Dominantan izvor prihoda >50% i <100%	13	21,0
	Dopunski izvor prihoda <50%	34	54,8
Tehnologija proizvodnje na gospodarstvu	Konvencionalna	27	43,5
	Održiva	24	38,7
	Ekološka	11	17,7

Percepcije nositelja poljoprivrednih gospodarstava o utjecaju i posljedicama klimatskih promjena na poslovanje njihovih gospodarstava uglavnom variraju od neutralnih do slaganja s pojedinom izjavom. Ispitanici se najviše slažu s izjavom „Svoje gospodarstvo moram kontinuirano prilagođavati postojećim klimatskih promjena“, a najmanje s izjavom „Zbog šteta od ekstremnih vremenskih uvjeta razmišljam o napuštanju poljoprivrede“. Dobivena vrijednost Cronbach alfa koeficijenta iznosi 0,788 i potvrđuje dosljednost u odgovorima ispitanika kroz različite skale, što nam govori o vrlo dobroj implicitnoj pouzdanosti (DeVellis, 1991.) (Tablica 2).

Tablica 2. Percepcija nositelja poljoprivrednih gospodarstava o utjecaju i posljedicama klimatskih promjena na poslovanje njihovih gospodarstava

Izjava	Stupanj slaganja M	SD	MIN	MAX	MOD
Svoje gospodarstvo moram kontinuirano prilagođavati postojećim klimatskim promjenama.	3,85	0,956	1	5	4
Vjerujem da će ekstremni vremenski uvjeti sve češće i jače pogađati moje gospodarstvo.	3,79	0,852	1	5	4
Klimatske promjene predstavljaju veliki problem u poslovanju mog gospodarstva.	3,39	1,014	1	5	4
Zbog klimatskih promjena rizik u poslovanju mog gospodarstva svake godine je sve veći.	3,39	1,014	1	5	4
Ekstremni vremenski uvjeti uzrokuju česte i velike štete na mom gospodarstvu.	3,21	1,088	1	5	4
Zbog šteta od ekstremnih vremenskih uvjeta razmišljam o napuštanju poljoprivrede.	1,98	1,094	1	5	1
Cronbach alfa koeficijent za skalu = 0,788					

Provedena jednosmjerna analiza varijance i post hoc Tukey test, pokazali su da tehnologija proizvodnje na gospodarstvu i udio poljoprivrede u ukupnom prihodu kućanstva utječe na slaganje s izjavama u anketi (Tablica 3). Za varijable spol, godine, lokacija gospodarstva, obrazovanje i obrazovanje u području poljoprivrede utjecaj na razine slaganja s pojedinim izjavama nije utvrđen.



Tablica 3. Statistički značajni rezultati ANOVA-e (za obilježja Tehnologija proizvodnje na gospodarstvu i Udio prihoda iz poljoprivrede u prihodima kućanstva)

Izjava	Obilježje i modaliteti	Stupanj slaganja M	F	p vrijednost (p≤0,05)
<b>Tehnologija proizvodnje na gospodarstvu</b>				
Klimatske promjene predstavljaju veliki problem u poslovanju mog gospodarstva.	Konvencionalna	3,48	3,180	0,049
	Održiva <sup>a</sup>	3,04		
	Ekološka <sup>b</sup>	3,91		
Ekstremni vremenski uvjeti uzrokuju česte i velike štete na mom gospodarstvu.	Konvencionalna	3,22	3,710	0,030
	Održiva <sup>a</sup>	2,88		
	Ekološka <sup>b</sup>	3,91		
Vjerujem da će ekstremni vremenski uvjeti sve češće i jače pogađati moje gospodarstvo.	Konvencionalna	4,00	5,552	0,006
	Održiva <sup>a</sup>	3,38		
	Ekološka <sup>b</sup>	4,18		
<b>Udio prihoda iz poljoprivrede u prihodima kućanstva</b>				
Zbog klimatskih promjena rizik u poslovanju mojeg gospodarstva svake godine je sve veći.	Jedini izvor prihoda <sup>a</sup>	4,13	6,289	0,003
	Dominantan izvor prihoda >50% <sup>b</sup>	3,15		
	Dopunski izvor prihoda <50% <sup>b</sup>	3,15		

Napomena: \*slova a i b označavaju postojanje statistički značajnih razlika, Tukeyev test,  $p \leq 0,05$

Iz značajnih razlika u stupnjevima slaganja s obzirom na tehnologiju proizvodnje (konvencionalna, održiva ili ekološka) proizlazi da ispitanici koji primjenjuju ekološke prakse u većoj mjeri smatraju da klimatske promjene predstavljaju problem u proizvodnji nego oni s održivom proizvodnjom. Nadalje, ekološki proizvođači su također više suglasni da ekstremni vremenski uvjeti uzrokuju česte i velike štete, kao i da će ekstremni vremenski uvjeti sve češće i jače pogađati njihova gospodarstva nego proizvođači koji primjenjuju prakse održive poljoprivrede. Varijabla udio prihoda iz poljoprivrede također je utjecala na razlike u stupnju slaganja i to za izjavu da je rizik za bavljenje poljoprivredom sve veći zbog klimatskih promjena. S navedenom izjavom više se slažu ispitanici kojima je poljoprivreda jedini izvor prihoda u odnosu na ostale.

### Zaključak

Cilj rada je bio istražiti percepciju nositelja poljoprivrednih gospodarstava o utjecaju i posljedicama klimatskih promjena na poslovanje poljoprivrednih gospodarstva. Podaci su prikupljeni anketnim upitnikom na uzorku od 62 ispitanika. Zabilježena je statistički značajna razlika između ispitanika koji primjenjuju prakse održive poljoprivrede na gospodarstvu i onih kojih primjenjuju ekološke prakse, pri čemu su ekološki proizvođači više svjesni negativnog učinka klimatskih promjena. Također, razlika je utvrđena između proizvođača kojima je poljoprivreda jedini izvor prihoda i onih kojima to nije, pri čemu se proizvođači kojima je poljoprivreda jedini izvor prihoda više slažu s izjavom da se zbog klimatskih promjena povećava rizik u poslovanju njihovog gospodarstva. Ograničenje ovog istraživanja ogleda se malom uzorku i zemljopisnom ograničenju istraživanja. Ovaj rad nastoji istaknuti potrebu za sveobuhvatnijim istraživanjima o klimatskim promjenama i utjecaju tih promjena na poljoprivredne proizvođače, kao i određivanja rizika te njegova utjecaja na poslovanje poljoprivrednih gospodarstava, posebice ako je riječ o gospodarstvima kojima je poljoprivreda jedini izvor prihoda.

## Napomena

Istraživanje neophodno za ovaj rad dio je projekta „Agrobioraznolikost - osnova za prilagodbu i ublažavanje posljedica klimatskih promjena u poljoprivredi“ KK.05.1.1.02.0005 financiranog iz Europskog fonda za regionalni razvoj i Fonda za zaštitu okoliša i energetske učinkovitost u sklopu poziva Shema za jačanje primijenjenih istraživanja za mjere prilagodbe klimatskih promjena KK.05.1.1.02.

## Literatura

- Agencija za plaćanje u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju RH (2019). Upisnik poljoprivrednih gospodarstava.
- Abid M., Scheffran J., Schneider U.A., Ashfaq M. (2015.). Farmers' perceptions of and adaptation strategies to climate change and their determinants: the case of Punjab province, Pakistan. *Earth System Dynamics*. 6: 225-243.
- Arbuckle J.G. Jr., Morton L.W., Hobbs J. (2015). Understanding Farmer Perspectives on Climate Change Adaptation and Mitigation: The Roles of Trust in Sources of Climate Information, Climate Change Beliefs, and Perceived Risk. *Environment and Behavior*. 47 (2): 205-234.
- Arndal Woods B., Ørsted Nielsen H., Branth Pedersen A., Kristofersson D. (2017). Farmers' perceptions of climate change and their likely responses in Danish agriculture. *Land Use Policy*, 65: 109-120.
- Battaglini A., Barbeau G., Bindi M., Badeck F.W. (2009). European winegrowers' perceptions of climate change impact and options for adaptation. *Regional Environmental Change*. 9: 61-73.
- DeVellis R.F. (1991). *Scale development*. Newbury Park, NJ: Sage Publications.
- McCarl B. A., Hertel T. W. (2018). Climate Change as an Agricultural Economics Research Topic. *Applied Economic Perspectives and Policy*. 40 (1): 60-78.
- Ministarstvo financija (2020). Prijavljene štete po vrstama prirodnih nepogoda po županijama.
- Ministarstvo zaštite okoliša i energetike (2017). Podaktivnost 2.6.1. Izrada radne verzije strategije prilagodbe klimatskim promjenama u Republici Hrvatskoj za razdoblje do 2040. godine s pogledom na 2070. godinu (Zelena knjiga). Projekt Jačanje kapaciteta Ministarstva zaštite okoliša i energetike za prilagodbu klimatskim promjenama te priprema Nacrta strategije prilagodbe klimatskim promjenama.
- OECD (2016). Agriculture and Climate Change: Towards Sustainable, Productive and Climate-Friendly Agricultural Systems. oecd Meeting of Agriculture Ministers. Background Note. April, 2016.

## Farm holders' perceptions of the impacts and consequences of climate change

### Abstract

The aim of this paper is to investigate the perceptions of farm holders towards the impacts and consequences of climate change on farms. In the research we used a questionnaire administered to a sample of 62 farm holders in Istria and Primorje-Gorski Kotar counties. In the data analysis one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used. It was found that the variables gender, age, location of the farm, level of education and education in agriculture had no influence on the perceptions, while the variables production technology on the farm and the share of farm income in the household had an influence on farm holder' agreement with several statements related to the impact of climate change on their farm.

**Key words:** climate change, agriculture, crop production, perception

PRETHODNO PRIOPĆENJE

## Utjecaj čimbenika kvalitete na percepciju potrošača prilikom odluke o kupnji u kratkim lancima opskrbe hranom

Dušanka Gajdić<sup>1</sup>, Dejan Marenčić<sup>1</sup>, Gorana Pavičić<sup>2</sup><sup>1</sup>Visoko gospodarsko učilište u Križevcima, M. Demerca 1, Križevci, Hrvatska (dgajdic@vguk.hr)<sup>2</sup>Srednja gospodarska škola Križevci, M. Demerca 1, Križevci, Hrvatska

### Sažetak

Cilj rada je temeljem primarnog istraživanja provedenog na uzorku n = 250 potrošača na području sjeverozapadne Hrvatske, utvrditi percepcije i stavove potrošača o kvaliteti prehrambenih proizvoda u kratkim lancima opskrbe (KOL) te utjecaj na odluku o kupnji. Na temelju rezultata istraživanja, bez obzira na spol ili dob, kao glavna motivacija za kupnju poljoprivredno-prehrambenih proizvoda (PPP) ističu se zdravstvena ispravnost i svježina proizvoda. Kao najveću prednost kupnje PPP putem KOL ispitanici su istaknuli bolji okus proizvoda, a najvećim nedostatkom kupovine PPP putem KOL smatraju manju kontrolu kvalitete.

**Ključne riječi:** kratki lanci opskrbe, motivi kupnje, percepcije potrošača, kvaliteta hrane

### Uvod

U doba globalizacije tržišta hrane, KOL povratak su tradicionalnim sustavima distribucije hrane (Maye i Kirwan, 2010.). KOL hranom pružaju pouzdanu zamjenu za konvencionalne opskrbe lance, jer hrana odražava obilježja „lokalnog“, „prirodnog“, „zdravog“ i „pouzdanog“ (Gajdić, 2019.). Temeljeno na izučavanoj literaturi, ključne odrednice KOL su: što kraća udaljenost između proizvođača i potrošača (Todorovic i sur., 2018.), maksimalno jedan posrednik (Renting i sur., 2003.), veza s lokalnim područjem (Wubben i sur., 2013.), socijalna interakcija i međusobno povjerenje kupaca i proizvođača (Renting i sur., 2003.), praćenje podrijetla proizvoda (Conceição Aguiar i sur., 2018.), održivi sustav gradske prehrane (Schmutz i sur., 2017.), te održivost okoliša (Holloway i sur., 2007.). Znatna su istraživanja iz područja ponašanja potrošača koja su pokazala da potrošači pridaju veliku važnost određenim ekstrinzičnim i intrinzičnim obilježjima pri kupnji hrane (Enneking i sur., 2007., Mesić i sur., 2017., Jelić Milković i sur., 2018.). Potrošači žele kvalitetnu i svježiju hranu, poznatog porijekla te sve više kupuju hranu putem KOL što je osobito došlo do izražaja u posljednje vrijeme zbog pojave pandemije COVID19. Nekoliko je važnih čimbenika koji potiču potrošača da kupuju PPP putem KOL: kvaliteta hrane, rok trajanja i cijena (Kawecka i Gębarowski, 2015.), razina obrazovanja i stil života (Zoll i sur., 2017.), osobno zadovoljstvo (Giampietri i sur., 2016.), poznato podrijetlo hrane koju kupuju i promicanje zdravlja i potpora lokalnoj zajednici (Haas i Petz, 2017.).

### Materijal i metode

Primarno istraživanje provedeno je na području sjeverozapadne Hrvatske na uzorku od n = 250 ispitanika, putem anketnog upitnika strukturiranog u dva dijela. Prvi dio odnosi se na socio-demografske karakteristike, dok se drugi dio bavio općim stavovima i informiranosti potrošača o kvaliteti hrane u KOL. Anketiranje je provedeno licem u lice i putem online anketnog upitnika u ožujku i travnju 2019. godine. Dobiveni podaci obrađeni su u statističkom programu Statistica 13.4.0.14. (TIBO Software, Inc 1984-2018) korištenjem GLM postupka. U analizi izraženosti utjecaja dobi i spola upotrijebljen je ANOVA multivarijantni linearni model, a značajnost razlika utvrđena je uporabom Unequal N HSD testa.

## Rezultati i rasprava

U istraživanju je sudjelovalo 54 % žena i 46 % muškaraca. S obzirom na starost ispitanika, dominirali su mladi ispitanici od 18 do 30 godina (29,2 %) te oni između 41 - 50 godina (24,4 %). Većina ispitanika ima završeno srednjoškolsko obrazovanje (52,4 %), a zaposlenih je 65,6 %. Gledajući obiteljski status, veći broj ispitanika živi u obitelji s malom djecom (41,2 %), dok najmanji broj ispitanika živi u bračnoj zajednici bez djece (14,4 %).

Ispitanici su ocjenjivali čimbenike kvalitete PPP koji su im najvažniji kod donošenja odluke o kupnji hrane u KOL ocjenama od 1 (uopće mi nije važno) do 5 (veoma mi je važno). Promatrajući Tablicu 1 razvidno je kako su svježina ( $\bar{X} = 4,60$ ) i zdravstvena ispravnost ( $\bar{X} = 4,56$ ) statistički najznačajniji i najvažniji čimbenici kvalitete PPP prilikom odluke o kupnji. Između svježine i zdravstvene ispravnosti nema statistički značajne razlike, no statistički se značajno razlikuju od ostalih ocjenjivanih čimbenika. Najlošiju ocjenu dobio je čimbenik mogućnost dostave na kućni prag ( $\bar{X} = 2,81$ ) i on se statistički značajno razlikuje od ostalih čimbenika kvalitete PPP, osim od čimbenika poznavanja procesa proizvodnje ( $\bar{X} = 3,00$ ).

Tablica 1. Značajnost razlika važnosti čimbenika kvalitete PPP prilikom odluke o kupnji na ukupno istraženom uzorku (N = 250)

Čimbenici kvalitete PPP	$\bar{X}$	sd	$s \bar{X}$	min.	maks.	Cv
Svježina	4,60a	0,68	0,04	2	5	16,75
Zdravstvena ispravnost	4,56a	0,76	0,05	1	5	14,84
Dobra organoleptička svojstva	4,16b	0,85	0,05	2	5	20,43
Cijena proizvoda	3,82c	0,98	0,06	1	5	25,75
Dostupnost proizvoda	3,80c	0,93	0,06	1	5	24,56
Primamljiv izgled	3,75c	0,94	0,06	2	5	25,14
Ekološka proizvodnja	3,41d	1,14	0,07	1	5	33,46
Proizveo meni poznati proizvođač	3,37d	1,22	0,08	1	5	36,17
Posjedovanje certifikata ili znaka kvalitete	3,22de	1,17	0,07	1	5	36,23
Poznavanje procesa proizvodnje	3,00ef	1,10	0,07	1	5	36,71
Mogućnost dostave na kućni prag	2,81f	1,39	0,09	1	5	49,49

Napomena: <sup>a,b,c,d,e,f</sup> vrijednosti u istom stupcu tablice označene različitim slovima značajno se razlikuju;  $P < 0,05$ .

Izvor: izračun autora prema empirijskom istraživanju

Rezultati istraživanja (Gajdić i sur., 2019.) upućuju da se atributi kod donošenja odluke o kupnji hrane mogu klasificirati kao vanjski (npr. posjedovanje certifikata, poznati proizvođač, ambalaža i dr.) i subjektivni (zdravstvena ispravnost, svježina, ukus, izgled), gdje su subjektivni atributi te također i intrinzična obilježja kvalitete (Mesić i sur., 2017.) dominantniji, što je potvrđeno i ovim istraživanjem. Primjenom Unequal N HSD testa utvrđene su određene statistički značajne razlike u stavovima ispitanika o najvažnijim čimbenicima kvalitete koji utječu na donošenje odluke o kupnji PPP putem KOL s obzirom na dob ispitanika (Tablica 2). Kod čimbenika zdravstvena ispravnost utvrđena je statistički značajna razlika između dobnih skupina 18 - 30 i 31 - 40 godina ( $P < 0,05$ ). Zanimljivo je za istaknuti da su ispitanici dobne skupine 31 - 40 godina čimbenik kvalitete zdravstvena ispravnost visoko rangirali (najmanja ocjena 4). Što se tiče čimbenika svježina, najniža ocjena 4,42 utvrđena je kod dobne skupine 18 - 30 i ona se statistički značajno razlikovala od ocjena kod dobnih skupina 31 - 40 i 41 - 50 ( $P < 0,05$ ).

Tablica 2. Značajnost razlika čimbenika kvalitete PPP prilikom odluke o kupnji s obzirom na različitu dob ispitanika

Čimbenici kvalitete PPP	18 – 30 (N = 73)	31 – 40 (N = 56)	41 – 50 (N = 61)	>50 (N = 60)	s $\bar{X}$
Zdravstvena ispravnost	4,44 <sup>ac</sup>	4,79 <sup>b</sup>	4,72 <sup>ab</sup>	4,35 <sup>c</sup>	0,09
Svježina	4,42 <sup>a</sup>	4,75 <sup>b</sup>	4,77 <sup>b</sup>	4,50 <sup>ab</sup>	0,08
Primamljiv izgled	3,89	3,73	3,69	3,65	0,12
Dobra organoleptička svojstva	4,14 <sup>ab</sup>	4,25 <sup>ab</sup>	4,36 <sup>a</sup>	3,92 <sup>b</sup>	0,11
Poznavanje procesa proizvodnje	2,81	3,20	3,25	2,80	0,14
Proizveo poznati proizvođač	3,12 <sup>a</sup>	3,30 <sup>ab</sup>	3,77 <sup>b</sup>	3,33 <sup>ab</sup>	0,16
Ekološka proizvodnja	3,14 <sup>a</sup>	3,73 <sup>b</sup>	3,66 <sup>ab</sup>	3,20 <sup>ab</sup>	0,14
Posjedovanje certifikata ili znaka kvalitete	3,21 <sup>ab</sup>	3,32 <sup>ab</sup>	3,52 <sup>b</sup>	2,83 <sup>a</sup>	0,15
Cijena proizvoda	3,86	3,73	3,74	3,93	0,13
Dostupnost proizvoda	3,68	3,71	4,05	3,78	0,12
Mogućnost dostave na kućni prag	2,51 <sup>a</sup>	3,00 <sup>ab</sup>	2,70 <sup>ab</sup>	3,12 <sup>b</sup>	0,18

Napomena: <sup>a,b,c</sup> vrijednosti u istom redu tablice označene različitim slovima značajno se razlikuju;  $P < 0,05$   
Izvor: izračun autora prema empirijskom istraživanju

Što se tiče spola ispitanika, i žene i muškarci kao najvažnije čimbenike kvalitete PPP kod odluke o kupnji ocjenjuju zdravstvenu ispravnost i svježinu proizvoda. Međutim, prema rezultatima (Tablica 3) ipak je utvrđena statistički značajna razlika u korist žena.

Tablica 3. Značajnost razlika čimbenika kvalitete PPP prilikom odluke o kupnji s obzirom na spol ispitanika

Čimbenici kvalitete PPP	muški (N = 115)	ženski (N = 135)	s $\bar{X}$	Razina značajnosti
Zdravstvena ispravnost	4,39	4,71	0,07	**
Svježina	4,43	4,75	0,05	***
Primamljiv izgled	3,75	3,75	0,09	NS
Dobra organoleptička svojstva	4,10	4,21	0,08	NS
Poznavanje procesa proizvodnje	2,90	3,09	0,09	NS
Proizveo poznati proizvođač	3,34	3,40	0,11	NS
Ekološka proizvodnja	3,29	3,52	0,10	NS
Posjedovanje certifikata ili znaka kvalitete	3,24	3,20	0,10	NS
Cijena proizvoda	3,87	3,78	0,09	NS
Dostupnost proizvoda	3,67	3,92	0,08	*
Mogućnost dostave na kućni prag	2,87	2,76	0,12	NS

Napomena: NS - nema značajne razlike; \* $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$

Izvor: izračun autora prema empirijskom istraživanju

Nadalje, ispitanici su bili zamoljeni da ocijene prednosti i nedostatke kupovanja PPP putem KOL, i to ocjenama od 1 (nije nikakva prednost) do 5 (velika prednost). Kako bi se ispitalo postojanje statistički značajne razlike u stavovima ispitanika o prednostima (Tablica 4) i nedostacima (Tablica 5) kupovine PPP putem KOL primijenjena je Unequal N HSD test. Kao najveću prednost kupnje PPP putem KOL ispitanici ističu bolji okus proizvoda ( $\bar{X} = 4,13$ ), a kao najmanju prednost prilikom kupnje putem KOL ističe se svojstvo mogućnost cjenkanja ( $\bar{X} = 3,20$ ) koje se statistički značajno razlikuje od svih ostalih prednosti kupovine PPP putem KOL, osim od prednosti smanjeno zagađenje okoliša ( $\bar{X} = 3,45$ ).

Tablica 4. Značajnost određenih prednosti kupovine PPP putem KOL na ukupno istraženom uzorku (N=250)

Prednosti	$\bar{X}$	sd	s $\bar{X}$	min.	maks	Cv
Bolji okus proizvoda	4,13 <sup>a</sup>	0,84	0,05	1	5	20,38
Poznati proizvođač tj. porijeklo proizvoda	4,00 <sup>ab</sup>	1,14	0,07	1	5	28,50
Prihvatljiva cijena proizvoda	3,98 <sup>abc</sup>	0,96	0,06	1	5	24,27
Kraći put hrane od proizvodnje do konzumacije / Svježiji proizvod	3,94 <sup>abc</sup>	0,97	0,06	1	5	24,54
Veća mogućnost samoizbora	3,91 <sup>abc</sup>	0,92	0,06	1	5	23,48
Mogućnost degustacije	3,87 <sup>abc</sup>	1,06	0,07	1	2	27,38
Dostupnost informacije o proizvodu iz prve ruke	3,81 <sup>bc</sup>	1,01	0,06	1	5	26,56
Poznato iskustvo kupovine	3,78 <sup>bc</sup>	1,05	0,07	1	5	27,84
Direktan kontakt s proizvođačem	3,67 <sup>cd</sup>	1,13	0,07	1	5	30,37
Smanjene zagađenja okoliša	3,45 <sup>de</sup>	1,19	0,07	1	5	34,34
Mogućnost cjenjkanja	3,20 <sup>e</sup>	1,27	0,08	1	5	39,71

Napomena: <sup>a,b,c,d,e</sup> vrijednosti u istom stupcu tablice označene različitim slovima značajno se razlikuju;  $P < 0,05$ .

Izvor: izračun autora prema empirijskom istraživanju

Kao najveći nedostatak kupovine PPP putem KOL ispitanici navode manja kontrole kvalitete ( $\bar{X} = 3,36$ ). Taj se nedostatak statistički značajno razlikovao od nedostataka koji su ujedno i najmanje ocijenjeni: nema deklaracije ( $\bar{X} = 2,99$ ) i proizvodi nisu pakirani ( $\bar{X} = 2,71$ ).

Tablica 5. Značajnost određenih nedostataka kupovine PPP putem KOL na ukupno istraženom uzorku (N=250)

Nedostatak	$\bar{X}$	sd	s $\bar{X}$	min.	max.	Cv
Manja kontrola kvalitete	3,36 <sup>a</sup>	1,14	0,07	1	5	33,90
Loši uvjeti prodaje	3,28 <sup>ab</sup>	1,14	0,07	1	5	34,78
Neadekvatno radno vrijeme	3,28 <sup>ab</sup>	1,21	0,08	1	5	36,98
Proizvodi nisu svakodnevno dostupni	3,23 <sup>ab</sup>	1,13	0,07	1	5	35,01
Viša cijena proizvoda	3,22 <sup>ab</sup>	1,21	0,08	1	5	37,60
Nema deklaracije	2,99 <sup>b</sup>	1,28	0,08	1	5	42,78
Proizvodi nisu pakirani	2,71 <sup>b</sup>	1,33	0,08	1	5	49,20

Napomena: <sup>a,b</sup> vrijednosti u istom stupcu tablice označene različitim slovima značajno se razlikuju;  $P < 0,05$

Izvor: izračun autora prema empirijskom istraživanju

## Zaključak

Rad donosi najvažnija saznanja o potrošačkim navikama i čimbenicima koji su važni prilikom donošenja odluke o kupnji PPP putem KOL. Na temelju rezultata istraživanja može se zaključiti da se njihova odluka o kupnji uglavnom temelji na percepciji o određenim željenim karakteristikama prehrambenih proizvoda koje kupuju. Među njima se, bez obzira na spol ili dob, kao glavna motivacija za kupnju ističu zdravstvena ispravnost i svježina proizvoda. Može se reći kako KOL ulijeva povjerenje kod različitih dobrih skupina ispitanika osobito što se tiče subjektivnih karakteristika PPP. Međutim, s obzirom da su ispitanici kao najveći nedostatak kupovine PPP putem KOL istaknuli manju kontrolu kvalitete, autori daju preporuke za daljnja istraživanja KOL s tog aspekta.

## Napomena

Podaci iznijeti u ovom radu predstavljaju dio rezultata istraživanja provedenog za potrebe izrade specijalističkog diplomskog stručnog rada studentice Gorane Pavičić obranjenog na Visokom gospodarskom učilištu u Križevcima 04.12.2020. pod mentorstvom Dušanke Gajdić, univ. spec. oec.

## Literatura

- Conceição Aguiar L., DelGrossi M. E., Thomé K. M. (2018). Short food supply chain: characteristics of a family farm. *Ciência Rural*. 48 (5): 1-8.
- Enneking U., Neumann C., Henneberg S. (2007). How important intrinsic and extrinsic product attributes affect purchase decision. *Food Quality and Preference*. 18 (1): 133-138.
- Gajdić D. (2019). Definiranje i obilježja kratkih opskrbenih lanaca poljoprivredno prehrambenih proizvoda. *Ekonomika misao i praksa*. XXVIII (1): 381-407.
- Gajdić D., Petljak K., Kralj N. (2019). Percepcije potrošača o sigurnosti hrane u sjeverozapadnoj Hrvatskoj. *Proceedings 54. Croatian and 14th International Symposium on Agriculture*, Mioč and Širić (Ed.), 107-112. Vodice, Hrvatska.
- Giampietri E., Finco A., Del Giudice T. (2016). Exploring consumers' behaviour towards short food supply chains. *British Food Journal*. 118 (3): 618-631.
- Haas R., Petz M. (2017). Introduction to the food chain, Consumer trends and new product opportunities in the food sector (ed. Klaus G. Grunert), Wageningen Academic Publishers, 83-101.
- Holloway L., Kneafsey M., Venn L., Cox R., Dowler E., Tuomainen H. (2007). Possible Food Economies: a Methodological Framework for Exploring Food Production-Consumption Relationships. *Sociologia Ruralis*. 47 (1): 1-19.
- Jelić Milković S., Lončarić R., Kristić, J. (2018). Potrošačke preferencije mladih potrošača prilikom kupnje prehrambenih proizvoda. *Agroekonomia Croatica*. 8 (1): 1-12.
- Kawecka A., Gębarowski M. (2015). Short food supply chains-benefits for consumers and food producers. *Journal of Agribusiness and Rural Development*. 3 (37): 459-466.
- Maye D., Kirwan J. (2010). Alternative food networks. *Sociopedia.isa*. 1-12.
- Mesić Ž, Hunjak V., Tomić M. (2017). Preferencije potrošača i važnost intrinzičnih i ekstrinzičnih obilježja čipsa od jabuke. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*. 12 (3-4): 120-125.
- Renting H., Marsden T. K., Banks J. (2003). Understanding alternative food networks: exploring the role of short food supply chains in rural development. *Environment and Planning*. 35: 393-411.
- Schmutz U., Kneafsey M., Sarrouy Kay K., Doernberg A., Zasada I. (2017). Sustainability impact assessments of different urban short food supply chains: examples from London. *Renewable Agriculture and Food Systems*. 33 (6): 518-529.
- Todorovic V., Maslaric M., Bojic S., Jokic M., Mircetic D., Nikolicic S. (2018). Solutions for More Sustainable Distribution in the Short Food Supply Chains. *Sustainability*, 10 (10): 3481.
- Zoll F., Specht K., Opitz I., Siebert R., Pierr A., Zasada I. (2017). Individual choice or collective action? Exploring consumer motives for participating in alternative food networks. *International Journal of Consumer Studies*. 1-10.
- Wubben E.F.M., Fondse M., Pascucci S. (2013). The importance of stakeholder-initiatives for business models in short food supply chains: the case of the Netherlands. *Journal on Chain and Network Science*. 13 (2): 139-149.

## **Influence of quality factors on consumer perception when making a purchase decision in short food supply chains**

### **Abstract**

The aim of this paper is to determine the perceptions and attitudes of consumers about the quality of food products in short supply chains (SSC) and the impact on the purchase decision, based on the primary research conducted on a sample of  $n = 250$  consumers in northwestern Croatia. Based on the results of the research, regardless of gender or age, the main motivation for buying agri-food products (AFP) is the health and freshness of the product. As the biggest advantage of buying AFP through SSC, the respondents pointed out the better taste of the product, and the biggest disadvantage of buying AFP through SSC is the lower quality control.

**Key words:** short supply chain, buying motives, consumer perception, food quality



## Influence of virtual communities on customer perception in agriculture

Iva Gregurec<sup>1</sup>, Katarina Tomičić-Pupek<sup>1</sup>, Tin Bartolec<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Organization and Informatics, University of Zagreb, Pavlinska 2, Varaždin, Croatia (iva.gregurec@foi.unizg.hr)*

### Abstract

Many industries, businesses and their processes of sales are undergoing a paradigm shift affected by digital technologies. Due to opportunities provided by social platforms the presence of companies in virtual communities increases. Virtual communities represent an inevitable marketing tool, which offers enormous potential for companies' promotion. The application new digital technologies in promotion activities in agriculture helps shaping customer's perception of a product or service and supports sustainability. This paper provides a brief overview of virtual communities and gives a conceptual proposal of influence elements around customer perception in agricultural trade.

**Key words:** customer perception, digital marketing, virtual communities, social platforms, agriculture

### Introduction

For the past few years, virtual communities as a part of relationship-oriented social platforms have become one of biggest internet trends. Owing to today's dynamic lifestyle, people seem to reject traditional ways of communication due to various reasons. They use a variety of virtual communities to communicate when they want to have an active private or business life. Virtual communities enable users to be part of a large, international community and to share information, opinions and content with other members online.

The growth of information and communication technologies as well as the emergence of online social platforms has profoundly changed the way information is transmitted (Duan et al., 2008). And today companies have in mind that the social platforms are places "...where actual and potential customers are interacting, and it shapes how they think" (Fisher, 2009) so companies include promotion via these channels in their marketing plans more often than ever. These platforms enable users to form or join new types of communities, to articulate their social needs, to establish or maintain connections with others (Ellison et al., 2007). They allow companies to create appropriate marketing strategies, adjusted to network users by age, gender, habits, like/dislikes, etc. With the help of users' profile companies could find their costumers more efficiently. Through virtual communities, companies can increase customer satisfaction and loyalty by building or boosting their company's profile, while customers can become their followers or fans. Besides creating loyalty, groups on virtual communities can attract new customers, not just keep the existing ones, which is very important for each company. So, this type of bonding with customers is often considered as creating a relationship.

### Material and methods

During the preparation of the paper, secondary data sources (desk research method) were used for the purpose of describing the theoretical basis. Based on the study of these sources and empirical cases from agriculture, a conceptual model of cause and effect relationships

was created. The conceptual model represents the Framework of customer perception elements and their influence on the usage of virtual communities in agriculture.

## Results and discussion

### Virtual community

In order to avoid misinterpretation, firstly a definition of a community in general needs to be created. It is defined as *„a group of people who share social interactions, social ties, and a common ‘space’; as a social network of relationships that provide sociability support, information, and a sense of belonging, and as a set of relationships where people interact socially for mutual benefit“* (De Moor et al., 2007). After defining the term community in general, a definition of a virtual community which differs it from other communities can follow. A virtual community is distinguished from other types of communities by the fact that its common space is cyberspace or virtual environment and that it allows social interaction among its members in an online environment. In literature, virtual communities have been characterized as groups of people with shared interests or goals for which electronic communication is a primary form of interaction, as groups of people who meet regularly to discuss a subject of interest to all members and at the end as groups of people brought together by shared interests or a geographic bond (Ridings and Gefen, 2004). Most common definition of virtual community according to literature states that virtual community is *„an aggregation of individuals or business partners who interact around a shared interest, where the interaction is at least partially supported and/or mediated by technology and guided by some protocols or norms“* (Illum et al., 2010).

People join a virtual community for the same reasons they join a physical one: information exchange, social relations, psychological support, and entertainment. Information exchange indicates that the members share information with others online rather than accessing information that the website operator provides. Members of the community interact with each other and they are embedded in web of personal relationships. In the community people satisfy their psychological needs (emotional support, a sense of belonging, and encouragement) and at the end they come to virtual community for entertainment purpose (Jung et al., 2010). We already mentioned, but we need to highlight ones more that the community offers people a sense of belonging, a feeling that there is an authority structure that can be trusted, an awareness of mutual benefits, and a spirit that comes from shared experiences (Kim et al., 2004) which can be seen as reasons why people join virtual communities.

### Relationships in virtual communities

Customers have become more powerful than ever and they have the ability to construct economics especially in marketing processes. This customer-centric model suggests that certain customers are becoming active market participants rather than the passive recipients of company-generated consumption cycles (Wu et al., 2010). Also if a company wants to satisfy the needs and desires of customers and create long term relationship with them, they have to keep in mind that *„a community needs to be able to influence its members and members must be able to influence them so communities must somehow reward their members and labeled it“* (Kim et al., 2004). Virtual communities need to have relationships between people with similar interests, and passion in a wide range of areas if they want to exist. Those relationships are formed by individuals who desire to share a particular experience, to exchange information and to provide people with the opportunity to explore

new identities in imaginary worlds (Kim et al., 2004). Virtual communities interact online with their members for the sake of achieving personal as well as shared goals of their members. Within virtual community information can be transmitted and exchanged instantly all over the world and at no cost, which is promising for the businesses but also for users because virtual communities may also act as important reference groups for consumers when making a purchase decision (De Valck et al., 2009).

Building and maintaining loyalty of members and long-term relationship with them is an important challenge in managing a virtual community. A positive social interaction experience within them is a key factor in motivating members to be loyal to a certain virtual community (Shen et al., 2010). So, if a company wants to maintain relationships that already exist and if they want to create long-term relationship with their customers they need to gain their trust and loyalty, and with the help of virtual communities they can do this much easier.

### Customer perception

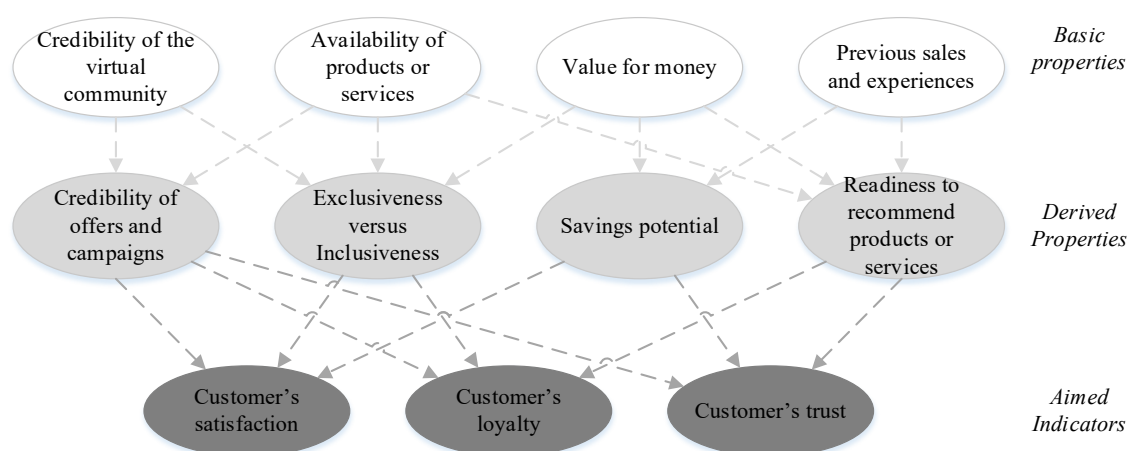
As we already mention, social platforms have made it much easier for companies to reach potential customers in a much simpler way at the lowest possible cost. The sales process itself can actually be described in a simplified way through 4 steps: discover customer wishes; find customers; establish a relationship with the customer, and the sales act itself (TopLine Results Corporation, 2017). With the development of 4.0 technologies in business (Oztemel and Gursev, 2018), existing paradigms are changing. In the case of the sales process through the first 3 steps, which actually enable the act of selling itself, the way the participants communicate is changed. Content creation actively involves users, users come to the fore and so social networks are created (Delgado, 2019). Virtual communities have changed the way people communicate, especially when considering two-way communication with the end user and the application of new technologies as a competitive advantage (Krämer et al., 2017) by enabling the sharing of content such as images, videos, text (social media dictionary - publication), gifs, audio, and similar digital content.

According to literature, customers buy products to meet some personal needs, or for personal reasons. Customers expect products to meet certain needs. When buying they must go through the purchase decision making process. So, when and before buying, they need to decide whether the price-satisfaction ratio suits them, and decide to buy the product or not. Overall customer satisfaction depends on the ratio of value and cost of the product or service and on the expectations that arise based on previous experience, recommendations from people who bought the product and information provided by marketing experts. The goal of the sales process is for customers to decide to buy the product and after purchasing decide whether they are satisfied with it or not. For this reason, when positioning products on the market, companies try to influence the customer perception as much as possible, more positively.

### Framework of customer perception elements on usage of virtual communities in agriculture

As we already mention, social platforms, especially virtual communities enable the implementation of different interactions with customers, and by using them companies can have an impact on different elements to different degrees. Almquist et al. (2016) have created a value pyramid model, built according to Maslow's hierarchy of needs. That model consisting of elements that they believe affect customer perception. The value pyramid is constructed in the way that 30 value elements are classified into 4 categories. That values are ranked from highest to lowest: social impact, life changes, emotional value elements,

and functional elements (Almquist et al., 2016). The elements of the pyramid can be influenced differently by modern and upcoming technologies, which also applies to the influence of social platforms. An assessment of the contribution of social platforms to value elements is presented in our framework of customer perception elements on usage of virtual communities. Indicators are defined according to the available literature and do not represent a finite set of elements. Our framework is defined at a conceptual level with the idea to consider the application of the impact analysis approach on customer perception. The impact assessment is expressed by the relationship of the properties on different levels and in practice it is necessary to test, quantify and measure the strength of the impact based on actual data. Due to the current epidemic crisis and the importance of the agriculture sector for sustainability, the model is developed with this sector in mind. Also, agricultural industry is undergoing substantial shifts influenced by the development of digital technologies, creating thereby the need of testing various improvement scenarios in business models.



Graph 1. Framework of customer perception elements on usage of virtual communities in agriculture

Source: authors

The conceptual framework of customer perception elements on usage of virtual communities from Graph 1 is as mentioned before inspired by empirical cases from the agriculture, and this is a strong limitation of our framework. According to the model, basic properties which can be measured are: Credibility of a virtual community, Availability of a products or service in Agriculture, Value for Money ratio and Previous sales and experiences (colored white). Basic elements impact derived properties located in the middle of model (colored light grey): Credibility of offers and campaigns, Exclusiveness versus Inclusiveness, Savings potential and Readiness to recommend product or services. The bottom layered-elements colored dark grey can be seen as aimed indicators of success: Customer's Satisfaction, Loyalty and Trust. The model also shows basic assumed impact relations, shown by arrows. Understanding how the identified elements influence the perception of customers when buying agricultural products or use agricultural services can be very helpful in developing relationships within virtual communities due to the growing number of people moving their personal and business routines online.

## Conclusions

In this paper we presented the development of digital technologies, especially virtual communities which present new challenges and opportunities in the transformation of processes and business. This same principle applies in the agriculture. By exploring potential

benefits from building or joining virtual communities' producers can customize and optimize their presence in virtual communities. This is seen as paradigm change which can become crucial for long-term sustainability in the market. This paper provides a brief overview of virtual communities and proposes a set of various elements which can influence the perception of customers when buying agricultural products or services online. The framework was developed on a conceptual level, as an idea to test the applicability of impact analysis as a basis for future research.

### Acknowledgments

This research has been conducted as a part of the wider research in the project Competence Centre for Digital Transformation of the Food Industry in Rural Areas, which is co-funded by European Union through the European Regional Development Fund (ERDF).

### References

- Almquist E., Senior J., Bloch N. (2016). The elements of value. *Harvard Business Review*. Available from: <https://hbr.org/2016/09/the-elements-of-value/>
- De Moor A., and Weigand H. (2007). Formalizing the evolution of virtual communities. *Information Systems*. 32: 223-247.
- De Valck K., Van Bruggen G.H., Wierenga B. (2009). Virtual communities: A marketing perspective. *Decision Support Systems*. 47: 185-203.
- Delgado H. (2019). Web 2.0 history, evolution and characteristics. Available from: <https://disenowebakus.net/en/web-2/>
- Duan W., Gu B., Whinston A. B. (2008). The dynamics of online word-of-mouth and product sales - An empirical investigation of the movie industry. *Journal of Retailing*. 84 (2): 233-242.
- Ellison N.B., Steinfield C., Lampe C. (2007). The Benefits of Facebook Friends: Social Capital and College Student's Use of Online Social Network Sites. *Journal of Computer - Mediated Communication*. Available from: <http://jcmc.indiana.edu/vol12/issue4/ellison.html/>
- Fisher T. (2009). ROI in social media: A look at the arguments. *Database Marketing & Customer Strategy Management*. 16 (3):189-195.
- Illum S.F., Ivanov S.H., Liang Y. (2010). Using virtual communities in tourism research. *Tourism Management*. 31: 335-340.
- Jung Y., and Kang H. (2010). User goals in social virtual worlds: A means-end chain approach. *Computers in Human Behavior*. 26: 218-225.
- Kim W.G., Lee C., Hiemstra S.J. (2004). Effects of an online virtual community on customer loyalty and travel product purchases. *Tourism Management*. 25: 343-355.
- Krämer A., Tachilzik T., Bongaerts R. (2017). Technology and Disruption: How the New Customer Relationship Influences the Corporate Strategy. In: Khare A., Stewart B., Schatz R. (eds). *Phantom Ex Machina*. Springer, Cham.
- Oztemel E., and Gursev S. (2018). Literature review of Industry 4.0 and related technologies. *Journal of Intelligent Manufacturing*. 31: 127-182.
- Ridings C.M., and Gefen D. (2004). Virtual Community Attraction: Why People Hang Out Online. *Journal of Computer-Mediated Communication*. 10 (1): article 4. Available from: [http://jcmc.indiana.edu/vol10/issue1/ridings\\_gefen.html/](http://jcmc.indiana.edu/vol10/issue1/ridings_gefen.html/)
- Shen J.C., Huang C.Y., Chu C.H., Liao H.C. (2010). Virtual Community Loyalty: An Interpersonal - Interaction Perspective. *International Journal of Electronic Commerce*. 15 (1): 49-73.
- TopLine Results Corporation (9.7.2017.). Sales Vs. Sales Processes – What's the Difference? Available from: <https://www.toplineresults.com/2017/06/sales-vs-sales-process-whats-difference/>
- Wu J.J., Chen Y.H., Chung Y.S. (2010). Trust factors influencing virtual community members: A study of transaction communities. *Journal of Business Research*. 63: 1025-1032.

## Značajke vanjske trgovine poljoprivredno-prehrambenih proizvoda Hrvatske određene analizom jediničnih cijena

Lari Hadelan<sup>1</sup>, Stjepan Špoljar<sup>2</sup>, Magdalena Zrakić Sušac<sup>1</sup>, Ornella Mikuš<sup>1</sup>, Mateja Jež Rogelj<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (mzrakic@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska - sveučilišni prvostupnik agrarne ekonomike*

### Sažetak

Pozitivna vanjskotrgovinska razmjena poljoprivredno-prehrambenih proizvoda odlika je uspješnog agroindustrijskog sektora. Uz pokrivenost uvoza izvozom, jedan od pokazatelja značajki vanjskotrgovinske razmjene je omjer jedinične izvozne i jedinične uvozne cijene (RUV pokazatelj). Izračunom RUV pokazatelja odabranih hrvatskih poljoprivredno-prehrambenih proizvoda utvrđena je vertikalna intra-industrijska razmjena uz nisku izvoznu kvalitetu hrvatskih jabuka te visoku kvalitetu mesnih prerađevina i vina. U vanjskotrgovinskoj razmjeni mliječnih i mesnih prerađevina utvrđena je horizontalna razmjena tj. podjednaka kvaliteta izvoznih i uvoznih proizvoda.

**Ključne riječi:** vanjskotrgovinska razmjena, poljoprivredno-prehrambeni proizvodi, jedinična cijena, RUV

### Uvod

Vanjskotrgovinska razmjena poljoprivredno-prehrambenih proizvoda u Hrvatskoj posljednjih tridesetak godina obilježena je kontinuiranim promjenama političko-gospodarskog okruženja. Od osamostaljenja Hrvatske odvijaju se tranzicijski procesi uvjetovani napuštanjem zatvorenog tipa gospodarstva i uključivanjem u europska tržišta otvorenog tipa. Uz rast usmjerenosti gospodarstva na vanjskotrgovinsku razmjenu sa zapadnim državama prisutna je i liberalizacija tržišta koja rezultira jačanjem konkurencije za domaće proizvođače poljoprivredno-prehrambenih proizvoda (nadalje PPP).

Intra-industrijska razmjena definira se kao istovremeni izvoz i uvoz istih proizvodnih grupa unutar istoga gospodarskog sektora (Vollrath, 1991.). Može biti horizontalna ili vertikalna. Kod vertikalne dolazi do razmjene proizvoda koji se nalaze u različitim stadijima proizvodnog procesa - proizvodi su različite kakvoće. Obrnuto, horizontalna razmjena podrazumijeva istodobni izvoz i uvoz proizvoda približno iste razine kakvoće - konkurentni proizvodi (Butorac, 2006.). Postoje različite metode primjenom kojih se intra-industrijska razmjena određuje horizontalnom ili vertikalnom. Jedna od najčešće korištenih u istraživanjima omjer je jedinične cijene izvoza i jedinične cijene uvoza dobara (Algieri, 2004.).

Jedinična izvozna cijena pokazatelj je značajki poljoprivredno-prehrambenog sustava neke zemlje. Visoka izvozna cijena hrane može ukazivati da u nekoj zemlji prevladavaju prehrambeni proizvodi veće dodane vrijednosti. S druge strane niska jedinična izvozna cijena obično se veže uz masovnu proizvodnju proizvoda niže dodatne vrijednosti.

Jedinična cijena izvoza ne mora nužno biti i pokazatelj kvalitete izvoznih proizvoda. Niske izvozne cijene mogu biti uvjetovane i drugim poslovnim čimbenicima. Npr. niskim troškovima ljudskog rada ili naprednim tehnološkim postupcima, niskim poreznim opterećenjem kao i niskim općim troškovima međunarodne trgovine (Szczygielski i Grabowski, 2009.). Ipak u kombinaciji s podacima o ostalim vanjskotrgovinskim značajkama poput pokrivenosti uvoza izvozom, izvoznim količinama, poznavanjem općih makroekonomskih prilika u kojima se odvija neka proizvodnja kao i izvoznim cijenama u usporedivim državama, jedinične izvozne cijene PPP-a mogu ukazivati na kvalitetu PPP-a i općenito konkurentnost u međunarodnoj razmjeni. Škuflić i Vlahinić-Dizdarević (2004.) navode da se može pretpostaviti da zemlja izvoznica kvalitetnih proizvoda može ostvariti višu izvoznju cijenu zahvaljujući dokazanoj boljoj kvaliteti svojih proizvoda na međunarodnom tržištu.

Ciljevi rada su:

- utvrditi vanjskotrgovinsku konkurentnost Hrvatske u razmjeni odabranih PPP-a,
- usporedbom s istovrsnim podacima za odabrane članice Europske unije odrediti značajke (kvalitetu) hrvatskih PPP-a u vanjskotrgovinskoj razmjeni.

### **Materijal i metode**

Uz relevantne statističke podatke o hrvatskoj vanjskotrgovinskoj razmjeni, u radu se izračunava RUV pokazatelj (indeks intra-industrijske specijalizacije) kojim se utvrđuje je li intra-industrijska razmjena PPP-a horizontalna ili vertikalna. U Hrvatskoj se za potrebe sektorskih analiza ovim pokazateljem koriste istraživači Ekonomskog instituta Zagreb (Buturac, 2009.; Buturac i Vizek, 2015.). Potonji navode da je RUV pokazatelj izvorno razvio Abd-el-Rahman 1991. godine. Kasnije su napravljene izvedenice toga pokazatelja.

RUV pokazatelj određenog proizvoda računa se izrazom

što pretpostavlja dostupnost podataka o vrijednosti izvoza i uvoza nekog proizvoda kao i količinama tog proizvoda u vanjskotrgovinskoj razmjeni.

Interpretacija dobivenog omjera na primjeru PPP-a je sljedeća:

- RUV u rasponu od 0,85 do 1,15 ukazuje na horizontalnu specijalizaciju - u intra-industrijskoj razmjeni PPP-a javljaju se proizvodi iste kakvoće.
- RUV manji od 0,85 – ukazuje na vertikalnu specijalizaciju pri kojoj prevladava uvoz PPP-a velike dodane vrijednosti i izvoz PPP-a male dodane vrijednosti. Ovakav pokazatelj najčešće je odraz zaostajanja države u međunarodnoj razmjeni obzirom da niska jedinična cijena indicira slabu izvoznju kvalitetu proizvoda.
- RUV veći od 1,15 – ukazuje na vertikalnu specijalizaciju pri kojoj se izvoze PPP-i veće dodane vrijednosti od onih koji se uvoze. Ovakva vrijednost pokazatelja najčešće je pokazatelj dobre izvozne konkurentnosti države u kojoj se izvozni proizvodi dovode do visokog stupnja kvalitete i finalne obrade.

Podaci potrebni za izračun jediničnih izvoznih i uvoznih cijena preuzeti su iz međunarodne statističke baze Ujedinjenih naroda - UN Comtrade koja sadrži podatke o količinama uvozno-izvoznih proizvoda i pripadajućoj vrijednosti međunarodne razmjene za sve zemlje članice Ujedinjenih naroda.

## Rezultati i rasprava

Republika Hrvatska izraziti je neto uvoznik poljoprivredno-prehrambenih proizvoda. Prema podacima Državnog zavoda za statistiku, uvoz PPP-a u 2019. godini iznosio je 25,55 milijardi kuna. Istovremeno, izvezeno je ovih proizvoda u vrijednosti 16,77 milijardi kuna pa je tako ostvarena negativna vanjskotrgovinska bilanca od 8,78 milijardi kuna. U odnosu na prethodnu, 2018. godinu, porastao je uvoz pića za 12,9 %, prehrambenih proizvoda za 11,9 % i poljoprivrednih proizvoda za 5,1 %. Rast je ostvaren i u izvozu ovih proizvoda, ali su stope rasta značajno niže. Najviši rast izvoza ostvaren je u segmentu prehrambenih proizvoda (6,9 %), dok su stope rasta izvoza pića i poljoprivrednih proizvoda oko 1,7 %. Pokrivenost hrvatskog uvoza izvozom prema SITC klasifikaciji (Eurostat, 2020.) koja obuhvaća kategorije „Hrana i žive životinje“ te „Pića i duhan“ iznosila je u 2019. godini 63,4 %, najmanje među odabranim članicama EU prikazanim u Tablici 1.

Tablica 1. Pokrivenost uvoza izvozom za kategorije „Hrana i žive životinje“ te „Pića i duhan“ u 2019.

	Izvoz (EUR)	Uvoz (EUR)	Pokrivenost uvoza izvozom
Hrvatska	2.019.383.748	3.184.074.257	63,4 %
Češka	6.875.786.335	8.564.898.050	80,3 %
Mađarska	7.585.451.281	5.626.746.761	134,8 %
Nizozemska	77.119.797.164	51.974.930.055	148,4 %
Austrija	12.039.834.255	11.908.720.529	101,1 %
Poljska	29.872.692.019	18.550.592.859	161,0 %

Izvor: izračun autora prema podacima Eurostata

Uspješan i konkurentan poljoprivredno-prehrambeni sektor ne mora nužno rezultirati i pozitivnom vanjskotrgovinskom razmjenom. Jedna od europskih zemalja s najkonkurentnijim poljoprivredno-prehrambenim sektorom je Njemačka koja unatoč tome ima negativnu vanjsku trgovinsku razmjenu. Pokrivenost njemačkog uvoza izvozom poljoprivrednih proizvoda, hrane i pića u 2019. iznosila je 86,7 %. Potpuniji uvid u snagu neke države u vanjskotrgovinskoj razmjeni može se dobiti izračunom RUV pokazatelja.

Tablica 2. RUV pokazatelj za odabrane poljoprivredno-prehrambene proizvode u 2019.

		Jedinična izvozna cijena (USD/kg)	Jedinična uvozna cijena (USD/kg)	Pokrivenost uvoza izvozom	RUV
<b>Hrvatska</b>		<b>0,26</b>	<b>0,77</b>	<b>79 %</b>	<b>0,34</b>
Njemačka	Jabuke	0,86	0,90	9 %	0,96
Poljska		0,38	0,95	1000 %	0,40
<b>Hrvatska</b>		<b>3,79</b>	<b>2,39</b>	<b>88 %</b>	<b>1,59</b>
Njemačka	Mesne prerađevine	4,77	6,09	127 %	0,78
Poljska		3,40	5,59	1143 %	0,61
<b>Hrvatska</b>		<b>1,06</b>	<b>1,18</b>	<b>155 %</b>	<b>0,89</b>
Njemačka	Mliječni fermentirani	1,43	1,17	490 %	1,22
Poljska	proizvodi	1,34	1,33	171 %	1,00
<b>Hrvatska</b>		<b>3,24</b>	<b>2,78</b>	<b>10 %</b>	<b>1,16</b>
Njemačka	Svježa svinjetina	2,80	2,11	270 %	1,33
Poljska		2,15	2,48	58 %	0,87
<b>Hrvatska</b>		<b>3,39</b>	<b>1,44</b>	<b>50 %</b>	<b>2,35</b>
Njemačka	Vino	3,06	n.p.	40 %	n.p.
Poljska		2,75	2,55	9 %	1,08

Izvor: izračun autora prema podacima UN Comtrade



Za potrebe ovog rada, RUV Hrvatske i odabranih zemalja izračunat je za sljedeće odabrane predstavnike PPP-a – jabuke, svježu svinjetinu, vino, mliječne prerađevine te mesne prerađevine (Tablica 2).

Hrvatska izuzetno nepovoljnu vrijednost RUV pokazatelja ostvaruje u vanjskoj razmjeni jabuka što je posljedica niske izvozne cijene jabuka. Iz male pokrivenosti uvoza izvozom razvidno je da to nije posljedica troškovne konkurentnosti hrvatskih proizvođača voća, već niske kvalitete hrvatske izvozne jabuke koja se na stranim tržištima prodaje kao industrijska jabuka namijenjena daljnjoj preradi. S druge strane RUV pokazatelj ukazuje na visoku izvoznju kvalitetu hrvatskih mesnih prerađevina i vina. Nažalost, kod ovih kategorija kvalitetu ne prati i pozitivna vanjskotrgovinska bilanca koja je posebice nezavidna kod vina kod kojeg je pokrivenost uvoza izvozom svega 50 %. Među usporedivim državama razvidan je značajan vanjskotrgovinski suficit u razmjeni jabuka u Poljskoj koji je popraćen i niskim jediničnim izvoznim cijenama. Za razliku od situacije u Hrvatskoj, niska vrijednost RUV pokazatelja uz visoku pokrivenost uvoza izvozom upućuje na troškovnu konkurentnost proizvodnje jabuka u Poljskoj. Slična tome je i situacija s poljskom vanjskotrgovinskom razmjenom mesnih prerađevina gdje visoka pokrivenost uvoza izvozom te niska vrijednost RUV pokazatelja ukazuju na troškovnu konkurentnost u proizvodnji i vanjskotrgovinskoj razmjeni. U kategorijama svježa svinjetina i mliječni fermentirani proizvodi, Njemačka ostvaruje visoku pokrivenost uvoza izvozom što u kombinaciji s najvišim RUV pokazateljem ukazuje na premoć Njemačke u ovim kategorijama prehrambenih proizvoda u pogledu njihove kvalitete.

### Zaključak

Pozitivna vanjskotrgovinska razmjena jedan je od pokazatelja uspješnosti poljoprivredno-prehrambenog sektora države. Hrvatska od svoje samostalnosti ostvaruje negativnu vanjskotrgovinsku razmjenu koja je u 2019. iznosila 8,78 milijardi kuna. Potpunija slika vanjskotrgovinske konkurentnosti zemalja dobiva se uvidom u jedinične izvozne i uvozne cijene čijim se omjerom izračunava RUV pokazatelj. Prema RUV pokazatelju razvidna je vrsta intra-industrijske razmjene tj. kvaliteta izvoznih i uvoznih proizvoda. Rezultati rada ukazuju na nisku kvalitetu hrvatske izvozne jabuke te visoku kvalitetu mesnih prerađevina i vina. RUV pokazatelj, u kombinaciji s podacima o pokrivenosti uvoza izvozom može indicirati konkurentnost države u vanjskotrgovinskoj razmjeni poljoprivredno-prehrambenih proizvoda.

### Napomena

Istraživanja neophodna za ovaj rad dio su završnog rada Stjepana Špoljara (2020.): Usporedba jediničnih izvoznih cijena poljoprivredno-prehrambenih proizvoda Hrvatske i odabranih zemalja, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.

### Literatura

- Algieri B. (2004). Trade Specialization Patterns: The Case of Russia, BOFIT, Discussion Papers No. 19/2004, Helsinki, Finland: BOFIT Institute.
- Buturac G. (2006). Horizontalna i vertikalna specijalizacija u međunarodnoj robnoj razmjeni: slučaj Hrvatske i Češke. *Ekonomski pregled*. 57 (7-8): 475-489.
- Buturac G. (2009). Structural Characteristics of exports and imports of Croatian manufacturing. *Ekonomski pregled*. 60 (9-10): 432-457.
- Buturac G., Vizek M. (2015). Izvoz prehrambene industrije i učinci na gospodarstvo: slučaj Hrvatske. *Ekonomski pregled*. 66 (3): 203-230.

- Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske. Robna razmjena Republike Hrvatske s inozemstvom u 2019. Raspoloživo: [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2020/04-02-02\\_01\\_2020.htm](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2020/04-02-02_01_2020.htm)
- Eurostat. EU trade since 1988 by SITC.
- Szczygielski K., Grabowski W. (2009). Are Unit Export Values Correct Measures of the Exports' Quality? CASE Network Studies and Analyses No. 393, Raspoloživo: <https://ssrn.com/abstract=1517756> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.1517756>
- Škuflić L., Vlahinić-Dizdarević N. (2004). Koliko je hrvatska robna razmjena intra-industrijska? *Ekonomski pregled*. 55 (9-10): 727-751.
- UN Comtrade Database. Official international trade statistics and relevant analytical tables. Raspoloživo: <https://comtrade.un.org/data/>
- Vollrath T.L. (1991). A Theoretical Evaluation of Alternative Trade Intensity Measures of Revealed Comparative Advantage. *Weltwirtschaftliches Archiv*. 130 (2): 265-279.

## Features of international trade of Croatian agri-food products by unit price analysis

### Abstract

Positive international trade of agri-food products is a feature of a successful agro-industrial sector. In addition to the Coverage Ratio of Imports by Exports, one of the indicators of foreign trade characteristics is the Relative Unit Value Indicator (RUV indicator). With the calculation of the RUV indicator for selected Croatian agri-food products, a vertical intra-industrial specialization with low export quality of Croatian apples and high quality of meat products and wines was determined. In the international trade of dairy and meat products, a horizontal specialization has been established, ie. equal quality of export and import products.

**Key words:** international trade, agri-food products, unit price, RUV

## Key stakeholder groups for digital innovation of agriculture in Croatia

Larisa Hrustek<sup>1</sup>, Martina Tomičić Furjan<sup>1</sup>, Alen Džidić<sup>2</sup>, Dragica Šalamon<sup>2</sup>, Filip Varga<sup>2,4</sup>, Bastiaan van Loenen<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Organization and Informatics, University of Zagreb, Pavlinska 2, Varaždin, Croatia (lhrustek@foi.unizg.hr)*

<sup>2</sup>*Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Croatia*

<sup>3</sup>*Faculty of Architecture and the Built Environment, Delft University of Technology, Julianalaan 134, BL Delft, The Netherlands*

<sup>4</sup>*Centre of Excellence for Biodiversity and Molecular Plant Breeding, Svetošimunska 25, Zagreb, Croatia*

### Abstract

The current readiness of the agricultural sector in Croatia to transform is limited. Creating and using an open data ecosystem in which data truly is the main force of the innovation process offers an opportunity to strengthen cooperation in this sector. The stakeholders of the agricultural data ecosystem in Croatia were not investigated until now. The main goal of this paper was to identify key stakeholder groups in the Croatian agricultural data ecosystem using a complex query. Five groups of stakeholders with different roles were identified. Their needs are focused on greater cooperation in the sector and they all strive for the economic, environmental, and social sustainability.

**Key words:** innovation trends, agricultural ecosystem, stakeholder groups, open data

### Introduction

The agricultural sector faces significant challenges that require drastic changes in the sector's everyday operations. One of the most significant challenges is related to climate change and global warming. A second challenge are the daily varying market conditions, and rapidly changing consumer preferences and expectations. Third, new environmental policies and recommendations, as well as food quality and safety, affect the way agricultural systems can and should be managed (Meinke, 2019). The roles and responsibilities of agricultural stakeholders expanded significantly in terms of expectations in response to successfully facing these complex challenges, and digital disruptors stand out as the main force, i.e. innovations based on digital technologies and new concepts (Trivelli et al., 2019). Innovations in the agriculture sector can be classified into three categories, namely (1) political issues and forces aimed at creating and adopting innovations, (2) distinguishing between innovations of products and innovation of processes, and (3) their impact on economic operators, the market (Bucci et al., 2019), and ultimately on society.

In Croatia, the share of agriculture, forestry and fisheries in total GDP has declined in recent years and amounts to slightly less than 3 % (Croatian Bureau of Statistics, 2019). This might be the result of a minimal readiness of the agricultural sector in Croatia to transform, due to a lack of investments in infrastructure capacity, the adoption of new technologies and forms of business and competitiveness of local products on the European market. The establishment of "smart agriculture" in Croatia should increase the innovation readiness of the sector. Smart agriculture is based on the incorporation of digital technologies into machinery, equipment, and sensors in agricultural production systems, and enables the collection of large amounts of data and information generated by the gradual application of process automation (Orsini et al., 2019). Use and re-use of open data in agriculture has the

potential to improve production efficiency. However, the issue of creating a single information space for agriculture remains open (Shamin et al., 2019; European Commission, 2020). The implementation of the common data space depends on the extent to which different stakeholders provide support using relevant data collected from heterogeneous data sources (Aydin and Aydin, 2020). Therefore, open data in agriculture, generated in the agricultural production also on the basis of implemented digital technologies, are most important in innovation processes in the sector. In order to create an ecosystem in which data is truly the main force of the innovation process, the cooperation and collaboration of all stakeholders in the agriculture data ecosystem is needed. For this reason, the main goal of this paper is to present key stakeholder groups in the agricultural data ecosystem, map these stakeholder groups onto the Croatian ecosystem, and explore and define, for each stakeholder group, the basic features, roles and needs, considering the underlying data usage and management in the agricultural sector.

### Material and methods

In order to obtain a generic categorisation of stakeholders in agriculture we searched the Scopus and the Web of Science platforms using the following complex query: "stakeholder" OR "persons" OR "actors" AND "agriculture" OR "agriculture business" OR "farms" OR "agriculture sector" OR "agriculture area" OR "agriculture field" AND "open data". This complex query was searched by topic: the title, abstract, and keywords were included in the search. Given the results obtained, i.e. the number of articles on the topic and the year of publication, there were no special restrictions in this search. Based on the analysis of the literature, stakeholders' groups in the agricultural data ecosystem were identified. After that, based on the union of all stakeholders, stakeholder groups in the agricultural data ecosystem of Croatia were defined and their roles and needs were presented.

### Results and discussion

In the Scopus database we found 17 articles, and 15 articles were available for analysis. The same search of the WoS platform resulted in 3 articles. After reviewing the articles found on the WoS, there are referenced also in Scopus. This resulted in a total of 17 articles for further analysis, of which 15 were available.

The stakeholders within the literature were identified as follows (Table 1). Based on the literature analysis, the union of all identified stakeholders has given stakeholder groups defined as follows: agricultural producers/ farmers, management and support organisations, consumer organisations/ consumers, researchers and scientists and suppliers.

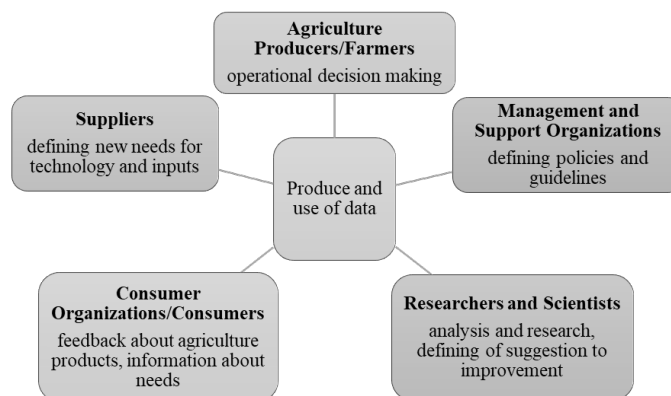
Table 1. Identified stakeholder within the literature

Stakeholders	Source
Public administration, Farmers and companies, Environmentalist group	Gautreau and Vélez, 2011
Contractors, Advisers, Industry, Research, Government, Business Associates and other Service Providers	Pesonen et al., 2013
Farmers, Researchers, Policy makers, Businesses, Advisors	Charvat et al., 2014
Agri-food industry, Consumers, Public administrations and Communities	Reznik et al., 2015
Community of data providers, Partners, Users	Celli et al., 2015
Farmers, Input and Technology Suppliers, Government, Participants in supply chains	Wolfert et al., 2017
Scientists and Societal actors	Ardila et al., 2018
Governments, Researchers, Farmers, International Organizations, Smallholder Farmers, Citizens, Service providers, SMEs, Multinationals	Musker and Schaap, 2018
Academic and Research Community, Industry, Standardization Bodies	Vučinić et al., 2018

Farmers, Researchers, Businesses, Analysts, and Experts	Aydin et al., 2018
Government, Private sector, Civil society groups, Consumers	Yuyanto and Liawatimena, 2018
Managers, Agriculture Business, Society, Support Scientists, End Users	Caballero et al., 2019
Farmers, Experts, Researchers, Domain Experts, Analysts	Aydin and Aydin, 2020
Farmers, Researchers, Analysts, Domain Experts and Exporters	Aydin and Aydin, 2020
Farmers, Extension agents, Researchers	Tonnang et al., 2020

### Stakeholder groups roles and needs in the agriculture ecosystem of Croatia

In order for the agricultural economy to sustainably operate, the ecosystem needs to be based on knowledge, new business concepts, and technological innovations, and key stakeholders in the agricultural sector need to be strengthened around their sphere of activity. Identifying stakeholders (Picture 1) is the first step in understanding the needs and quality of the sector, and the second step is to determine the relevance of their role and needs and the cooperative and incentive role in the sector. For identification of roles and needs, a blueprint of the national Strategy of the agriculture in Croatia was used (Ministry of Agriculture, 2020), given its detailed view of past, current and future needs of the agricultural sector, considering thereby only those related to data usage and management in the agricultural sector.



Picture 1. Key stakeholder groups for use of open data in the agricultural sector

Agricultural producers/ farmers simultaneously act as suppliers who offer their products, but also as members of the local community, procuring raw materials and supplies from other companies. These stakeholders are the main investors in their own rural community and play a vital role in the sustainability of the community itself, but also in the sustainability of the value chain and food system. They are expected to produce a sufficient amount of healthy, tasty, and fresh food that meets the prescribed quality standards. Data needs of agricultural producers/farmers are related to business investment, infrastructure and work capacity, business support through policies and recommendations, and most importantly, the availability of data for operational decisions and fair competition in the market.

Management and support organizations should strengthen farmers to invest responsibly, and improve their access to inputs, advisory, specialized financial services, special education, targeted training, and access to final consumers. The roles of the identified stakeholders of this group are somewhat different, however, their activities are aimed at encouraging the development and growth of the agricultural sector through policies, professional assistance, and financial support. Data needs of this group are aimed at building a business culture focused on sustainable development, encouraging all other stakeholders to cooperate and develop the sector through compliance with recommendations and policies, and support in building transparent business models through the availability of information by other stakeholders.

Researchers and scientists are important for performing different research analyses and for suggesting improvements. This group of stakeholders plays an important role in the implementation of scientific, professional, and project research, where the results of the research are input for the development of the agricultural sector through guidelines, recommendations, proposals, discovery of new methods, models, concepts, or products. The needs of this group in the ecosystem are related to greater involvement and cooperation in agricultural practice, availability of data necessary for conducting quality research, and a better understanding of the needs of all stakeholders in the agricultural ecosystem in Croatia and accordingly greater scientific contribution through research results. Consumers are buyers and users of finished agricultural products, and consumer organizations buy agricultural products for further production. The needs of consumers are related to the purchase of healthy and fresh food at reasonable prices and appropriate availability, while the needs of consumer organizations relate to the procurement of inputs needed in food processing and production. Suppliers of input raw materials and technology must play a role in providing appropriate production and technological inputs to farmers. Their need for data is significant due to the discovery of hidden needs in the market and the development of new, quality solutions tailored to the production needs of farmers.

## Conclusions

Five groups of stakeholders have been identified in the agricultural ecosystem: agricultural producers/ farmers, management and support organisations, consumer organisations/ consumers, researchers and scientists and suppliers. Their roles generally differ, but they all strive for the economic, environmental, and social sustainability of the agricultural sector. Their needs are focused on greater cooperation of all the stakeholders in the ecosystem. The presented overview will serve for further research on the introduction of new concepts for ecosystem development in the agricultural sector. A limitation in this paper is the search based on a complex query conducted in the Scopus and WoS database, which should be extended to additional professional databases in the field of agriculture and national databases as this article explores the open data agricultural ecosystem in Croatia. Future research will focus on additional and detailed search of stakeholders in professional and national databases, so additional categorization of stakeholders and analysis of their needs for open data can be made.

## Acknowledgement

The paper has been prepared in the context of the Twinning Open Data Operational (TODO) project which has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under Grant Agreement Number 857592 – TODO.

## References

- Ardila A.M., Rebscher A., Hack J. (2018). An open-data based assessment of expected changes in land use and water availability as a result of the construction of the west segment of the Nicaragua interoceanic canal. In *Environments – MDPI*. 5 (1) 14: 1-17.
- Aydin S., Aydin M.N. (2020). A Sustainable Multi-layered Open Data Processing Model for Agriculture: IoT Based Case Study Using Semantic Web for Hazelnut Fields. *Advances in Science. Technology and Engineering Systems Journal*. 5 (2): 309-319.
- Aydin S., Aydin M.N. (2020). Ontology-based data acquisition model development for agricultural open data platforms and implementation of OWL2MVC tool. *Computers and Electronics in Agriculture*. 175: 105589.

- Aydin S., Ünal U., Nafiz Aydin M. (2018). Open Data in Agriculture: Sustainable Model Development for Hazelnut farms using semantics. 6th International Conference on Control Engineering & Information Technology (CEIT), Istanbul, Turkey.
- Bucci G., Bentivoglio D., Finco A., Belletti M., Bentivoglio D. (2019). Exploring the impact of innovation adoption in agriculture: How and where Precision Agriculture Technologies can be suitable for the Italian farm system? IOP Conf. Series Earth Environ. Sci., 275.
- Caballero I., Ruiz J., Navarro G. (2019). Sentinel-2 Satellites Provide Near-Real Time Evaluation of Catastrophic Floods in the West Mediterranean. Water. 11 (12): 2499.
- Charvat K., Esbri Palomares M.A., Mayer W., Charvat J.K., Campos A.M., Palma R., Krivanek Z. (2014). FOODIE - Open Data for Agriculture. IST-Africa 2014 Conference Proceedings, Mauritius.
- Celli F., Malapela T., Wegner K., Subirats I., Kokoliou E., Keizer J. (2015). AGRIS: Providing access to agricultural research data exploiting open data on the web. F1000 Research. 4:110.
- Croatian Bureau of Statistics (2019). Gross Domestic Product - Annual Calculation. Available from: [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/Pokazatelj/Bruto%20domaci%20proizvod%20Godisnji.xls](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/Pokazatelj/Bruto%20domaci%20proizvod%20Godisnji.xls)
- European Commission (2020). A European strategy for data. COM (2020) 66 final. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A52020DC0066>
- Gautreau P., Vélez E. (2011). Strategies of environmental knowledge production facing land use changes: Insights from the silvicultural zoning plan conflict in the Brazilian state of Rio grande do sul. CyberGeo 2011.
- Meinke H. (2019). The role of modeling and systems thinking in contemporary agriculture. In *Sustainable Food Supply Chains: Planning, Design, and Control through Interdisciplinary Methodologies*. Bologna, Italy: Elsevier.
- Ministry of Agriculture (2020). Draft agricultural strategy, Croatia 2020-2030. Available from: [https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/novosti/Nacrt\\_strategije\\_poljoprivrede\\_2020\\_2030\\_.pdf](https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/novosti/Nacrt_strategije_poljoprivrede_2020_2030_.pdf)
- Musker R., Schaap B. (2018). Global Open Data in Agriculture and Nutrition (GODAN) initiative partner network analysis. F1000Research 2018.
- Orsini R., Basil D., Belletti M., Bentivoglio D., Bozzi C.A., et al. (2019). Setting of a precision farming robotic laboratory for cropping system sustainability and food safety and security: Preliminary results. IOP Conf. Series Earth Environ. Sci., 275.
- Pesonen, L.A., Teye F.K.-W., Ronkainen A.K., Koistinen M.O., Kaivosoja J.J., Suomi P.F., Linkolehto R.O. (2013). Cropinfra e An Internet-based service infrastructure to support crop production in future farms. Biosystems Engineering. 120.
- Řezník T., Lukas V., Charvát K., Horáková Š., Charvát J.K. (2015). Towards Farm-Oriented Open Data in Europe: the Scope and Pilots of the European Project "FOODIE". Agris On-line Papers in Economics and Informatics. VII (1): 51-58.
- Shamin A., Frolova O., Makarychev V., Yashkova N., Kornilova L., Akimov A. (2019). Digital transformation of agricultural industry. IOP Conf. Series Earth Environ. Sci., 346.
- Trivelli L., Apicella A., Chiarello F., Rana R., Fantoni G., Tarabella, A. (2019). Unveiling technological connections in the agrifood sector. British Food Journal. 121: 1730-1743.
- Tonnang H.E.Z., Balemi T., Masuki K.F., Mohammed I., Adewopo J., Adnan A.A., Mudereri B.T., Vanlauwe B., Craufurd P. (2020). Rapid Acquisition, Management, and Analysis of Spatial Maize (*Zea mays* L.) Phenological Data-Towards 'Big Data' for Agronomy Transformation in Africa. Agronomy. 10 (9): 1-12.
- Vučinić M., Pejanovic-Djurisic M., Watteyne T. (2018). SODA: 6TiSCH Open Data Action. Workshop on Benchmarking Cyber-Physical Networks and Systems, Porto, Portugal.
- Wolfert S., Ge L., Verdouwa C., Bogaardt M.J. (2017). Big Data in Smart Farming - A review. Agricultural Systems. 153: 69-80.
- Yuyanto and Liawatimena S. (2018). Implementation of Data Collecting Platform Over Distributed Sensors for Global Open Data for Agriculture and Nutrition. 6<sup>th</sup> International Conference on Cyber and IT Service Management (CITSM 2018), Medan, Indonesia.

## Važnost intrinzičnih i ekstrinzičnih obilježja kvalitete pri kupnji svježeg svinjskog mesa - pregled dosadašnjih istraživanja

Sanja Jelić Milković<sup>1</sup>, Ružica Lončarić<sup>1</sup>, Jelena Kristić<sup>1</sup>, Ana Crnčan<sup>1</sup>, Igor Kralik<sup>1</sup>, Kristina Gvozdanović<sup>1</sup>, Goran Kušec<sup>1</sup>, Ivona Djurkin Kušec<sup>1</sup>, Zlata Kralik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (sanja.jelic@fazos.hr)

### Sažetak

Svinjsko meso je dostupan i cjenovno prihvatljiv izvor hranjivih tvari u prehrani stanovništva. Kvaliteta mesa uglavnom je povezana s vizualnim i senzorskim karakteristikama mesa koje potrošači uzimaju u obzir prilikom kupnje i konzumacije mesa. Na stavove potrošača utječu čimbenici kao što su socijalni, ekološki, briga za zdravlje te način života. Oni su pod utjecajem ekonomske razine posebno kada je riječ o ekstrinzičnim čimbenicima kvalitete. Cilj ovog rada je utvrditi koja sve intrinzična i ekstrinzična obilježja kvalitete utječu na preferencije potrošača prilikom kupnje svježeg mesa svinja, a rezultati ovog istraživanja mogu poslužiti za buduća istraživanja ponašanja i preferencija potrošača prema svježem mesu i mesnim prerađevinama.

**Ključne riječi:** potrošači, intrinzična obilježja kvalitete, ekstrinzična obilježja, svježe svinjsko meso

### Uvod

Svinjsko meso zbog svoje dostupnosti, cijene i potrošnje zauzima važan udio ukupne proizvodnje i potrošnje prehrambenih namirnica u svijetu (Stupnišek i Mesić, 2019.). Europska unija je najveći izvoznik svinjskog mesa i drugi najveći svjetski proizvođač svinjskog mesa nakon Kine (Stupnišek i Mesić, 2019.). Konzumacija svinjskog mesa varira ovisno o zemlji, a najviše svinjskog mesa konzumira se u Austriji, Njemačkoj i Španjolskoj (Stupnišek i Mesić, 2019.). Proizvodnja svinjskog mesa u Republici Hrvatskoj je u konstantnom padu od 2010. godine i ne zadovoljava domaću potrošnju i oko 50 % potreba za mesom svinja podmiruje iz uvoza. Potrošnja svinjskog mesa u Republici Hrvatskoj u razdoblju od 2010. do 2017. u prosjeku iznosi 47,0 kg po glavi stanovnika (Kralik i sur., 2017.; Grgić i sur., 2015.). Međutim, Kranjac i sur. (2018.) predviđaju porast potražnje za mesom svinja u narednim godinama (do 2030. godine) za 10,62 %.

Meso i mesni proizvodi predstavljaju važan izvor bjelanjčevina u ljudskoj prehrani, a njihova kvaliteta varira u skladu s unutarnjim i vanjskim parametrima koji se mogu oblikovati kako bi proizvod bio poželjniji krajnjim potrošačima (Font-i-Furnols i Guerrero, 2014.). Prema spomenutim autorima kvaliteta svinjskog mesa je uglavnom povezana s mjerenjem senzorskih karakteristika (okus, sočnost, nježnost) kao i s vizualnim izgledom mesa (boja, prožetost masti, % otpuštanja mesnog soka) kojeg potrošači uzimaju u obzir prilikom odabira. Budući da su potrošači posljednji korak u proizvodnom lancu, korisno je utvrditi koji sve čimbenici utječu na njihove obrasce ponašanja jer bi to mesnom sektoru omogućilo da bolje zadovolji očekivanja, zahtjeve i potrebe potrošača (Font-i-Furnols i Guerrero, 2014.).

Cilj ovog rada je utvrditi koja intrinzična i ekstrinzična obilježja kvalitete utječu na preferencije potrošača prilikom kupnje mesa svinja.



## Materijal i metode

U istraživanju je korištena metoda analize, komparacije i kompilacije, meta-analiza te su utvrđena najvažnija intrinzična i ekstrinzična obilježja kvalitete koja utječu na odabir potrošača prilikom kupnje svinjskog mesa na temelju pregleda znanstvene i recentne literature. Meta-analiza je kvantitativni postupak objedinjavanja i analiziranja rezultata drugih istraživanja iste ili slične problematike. Postupak provođenja meta-analize se sastoji od nekoliko koraka. Prvenstveno je napravljena početna baza radova prikupljanjem istraživanja iz nekoliko ključnih baza podataka Scopus, Web of Science, Elsevier's Science Direct, AgEcon Search, Econ Papers i CAB Abstracts. U svakoj od navedenih baza podataka pretraženi su i odabrani radovi vezani za intrinzična i ekstrinzična obilježja kvalitete prilikom kupnje mesa pomoću ključnih riječi: intrinzična obilježja, ekstrinzična obilježja, kvaliteta, svinjsko meso, senzorske karakteristike, preferencije potrošača, marketinški čimbenici, te psihološki čimbenici. Prilikom prikupljanja literature u obzir su uzeti samo radovi iz akademskih časopisa, zbornici konferencija, knjige i disertacije, dakle radovi koji sadrže empirijska istraživanja, radovi objavljeni na hrvatskom i engleskom jeziku i istraživanja koja obuhvaćaju odraslu populaciju ispitanika. Od 50 prikupljenih istraživanja odabrano je 25 njih koji zadovoljavaju kriterije meta-analize.

## Rezultati i rasprava

Na preferencije potrošača i njihov izbor pri kupnji utječu mnogi čimbenici kao što su socijalni, ekološki čimbenici i briga za zdravlje, jer danas potrošači ne kupuju hranu samo zbog svoje primarne funkcije, već i zbog vanjskih obilježja kao što su prirodnost, autentičnost, podrijetlo i tradicija (Lončarić i sur., 2018., Cerjak i sur., 2017., Fenger i sur., 2015., Valkaj i sur., 2013.). Nadalje, u mnogim zemljama uočava se interes javnosti za održivom, visokokvalitetnom i sigurnom hranom posebno pod utjecajem skandala i kriza vezanih uz hranu u posljednjem desetljeću, a mnogi potrošači očekuju da se pri proizvodnji hrane u obzir uzmu intrinzična (vidljiva svojstva proizvoda), ali i ekstrinzična obilježja (marka, oznaka, cijena, podrijetlo, proizvodne i prehrambene informacije) kao i dobrobit životinja i druge etičke i društvene karakteristike (Grunert i sur., 2018.). Potrošači se prilikom donošenja odluke o kupnji oslanjaju na niz intrinzičnih (boja, miris, okus i svježina) i ekstrinzičnih obilježja (cijena i marka) kvalitete proizvoda te brojna istraživanja pokazuju kao navedena obilježja kvalitete imaju veliku ulogu prilikom donošenja odluke o kupnji (Jelić Milković i sur., 2018.). Intrinzična obilježja proizvoda su dio fizičkog izgleda samog proizvoda i ne mogu se mijenjati bez same promjene proizvoda za razliku od ekstrinzičnih obilježja kvalitete koja nisu fizički dio samog proizvoda, ali značajno utječu na donošenje odluke o kupnji (Jacoby i sur., 1971.). U današnje vrijeme nije bitno samo proizvesti što veće količine, nego zadovoljiti potrebe i specifične preferencije potrošača. Informacije o željama i potrebama potrošača trebale bi biti od velike važnosti proizvođačima kako bi proizveli proizvode koje su potrošači spremni platiti, te im cilj treba biti da imaju odgovarajući proizvod za odgovarajućeg kupca. Opskrba hranom uvelike je premašila potražnju za hranom što je pretvorilo tržišta u ekonomije usmjerene na potražnju, a cilj razmjene i marketinga je bolje zadovoljavanje potreba, zahtjeva i preferencija potrošača (Vanhonacker i sur., 2007.).

Na ponašanje potrošača prilikom kupnje utječe način života, ali i značajan broj vanjskih podražaja koji mogu promijeniti njihove kognitivne, emocionalne i voljne akcije i učiniti ih automatskim (Ortiz i sur., 2020.). Prema istraživanju Font-i-Furnols i Guerrero (2014.) čimbenici kao što su motivacija, percepcija, stavovi, očekivanja upravljaju našim životom i čine naše individualno ponašanje predvidljivim iz socijalne, ekonomske, kulturne ili psihološke perspektive. Glavi čimbenici koji utječu na ponašanje potrošača prilikom kupnje

svježeg mesa svinja mogu se podijeliti u psihološke čimbenike (način života, vrijednosti, sociološki čimbenici, očekivanja, stavovi), senzorski čimbenici (vizualni izgled mesa, tekstura, okus i miris mesa) i marketinški čimbenici (cijena, oznake, marka, dostupnost) (Font-i-Furnols i Guerrero, 2014.). Glitsch (2000.) očekivanja potrošača prema svježem mesu svinja dijeli na očekivanu kvalitetu ili „kvalitetu mesa u trgovini“ u koju ubraja ekstrinzična obilježja kao što su: deklaracije na proizvodu, mjesto kupnje, cijena i podrijetlo i intrinzična obilježja kao što su boja mesa i mramoriranost i ostvarenu kvalitetu ili kvalitetu nakon konzumacije u koju ubraja ostala senzorska obilježja kao što su okus, miris, sočnost i tekstura mesa.

Prilikom odabira svježeg mesa svinja potrošači u obzir uzimaju dvije do četiri karakteristike kako bi donijeli odluku o kupnji, a izgled mesa (boja mesa i sadržaj masti) se pokazao kao najvažniji kriterij prilikom odabira svježeg svinjskog mesa potrošača u Grčkoj i Cipru (Fortomaris i sur., 2006.). To se poklapa s istraživanjem Glitsch (2000.) koja navodi da od intrinzičnih obilježja kvalitete europskim potrošačima je vrlo bitna boja mesa i manja prožetost mesa masti. Potrošači boju mesa svinja većinom povezuju sa senzorskim karakteristikama mesa. Svježije svinjetina je crvenkasto-ružičaste boje, kompaktne strukture i suhe površine mesa, a neuobičajene i promijenjena boja mesa te otpuštanje mesnog soka djelovat će odbojno na kupce (Karolyi, 2004.). Vizualne karakteristike mesa razlikuju se između pojedinaca, grupa i istraživanih zemalja (Font-i-Furnols i Guerrero, 2014.). Nadalje Ngapo i sur. (2007.) navode da većina potrošača preferira meso s manje masti posebno potrošači u Poljskoj, Finskoj i Meksiku. Također većina potrošača preferira svjetlije meso i nemasno za razliku od potrošača u Tajvanu koji preferiraju tamno crveno meso svinja i potrošača u Koreji koji preferiraju meso svjetlije crvene boje i masnije. Vizualne karakteristike mesa također se razlikuju i prema dobi i spolnoj strukturi potrošača pa tako potrošači mlađi od 35 godina preferiraju tamno crveno meso svinja bez masti što je također preferencija muške populacije dok ženska populacija ispitanika preferira svjetlije crveno meso (Fortomaris i sur., 2006.).

Potrošači u mnogim slučajevima vjeruju informacijama prezentiranim putem medija, oglasa, usmene predaje i iskustva treće strane jer nemaju dovoljno znanja ili informacija o kvaliteti svježeg mesa te se također često oslanjaju na preporuke mesara kao stručne osobe ili na cijenu proizvoda koja nužno ne predstavlja kvalitetu istoga (Ripoll i Panea, 2019.). Međutim, u usporedbi s drugim obilježjima u istraživanju Verbeke i Viaene (1999.) zabilježeno je da cijena utječe na percepciju potrošača o mesu odmah nakon kvalitete, okusa, mesa bez prisutnosti hormona i zdravstvene ispravnosti svježeg mesa. Prema tome možemo zaključiti da je cijena važan marketinški čimbenik za potrošače prilikom donošenja odluke o kupnji, ali je također povezana sa socio-demografskim karakteristikama ispitanika (dob i spol ispitanika, ekonomski status i obrazovanje) (Font-i-Furnols i Guerrero, 2014.). To potvrđuje i istraživanje Grunert i sur. (2018.) koji su došli do zaključka da dobrobit životinja, ekološki aspekt proizvodnje i zdravstvena ispravnost mesa više utječu na izbor njemačkih potrošača za razliku od potrošača u Poljskoj koji prilikom kupnje više vrednuju tradicionalne atribute proizvoda kao što su sadržaj masti, boja mesa, podrijetlo i cijena. Prema istraživanju Brečić i sur. (2017.) provedenog u Hrvatskoj, autori su došli do zaključka da hrvatski potrošači prilikom kupovine prehrambenih proizvoda prvenstveno u obzir uzimaju intrinzična obilježja proizvoda i to senzorska obilježja zatim zdravstvenu ispravnost hrane, a na drugom mjestu su im ekstrinzična obilježja kao što su cijena i dostupnost proizvoda. Međutim, potrošači danas sve više pažnje poklanjaju i drugim ekstrinzičnim obilježjima prilikom kupovine prehrambenih proizvoda. U istraživanju Martelli (2007.) prikazani su rezultati europskih i talijanskih istraživanja o percepciji potrošača o dobrobiti životinja na farmama,

a posebna pažnja posvećuje se mišljenju potrošača o atributima vezanim za dobrobiti životinja, razlikama između vrsta mesa i među zemljama u smislu percepcije o dobrobiti životinja i spremnosti kupaca da plate više za hranu koja potječe od životinja uzgajanih u boljim uvjetima. Liljenstolpe (2005.) navodi da su potrošači spremni platiti više za takve proizvode, ali je potrebna daljnja tržišna segmentacija na proizvode životinja uzgajanih više ili manje u skladu s preporukama o dobrobiti životinja u odnosu na proizvode od životinja uzgajanih na konvencionalan način. Tržište zahtjeva deklaraciju proizvoda životinja uzgajanih više ili manje u skladu s preporukama o dobrobiti životinja kao i pružanje informacija potrošačima kako bi imali više znanja o postupanju sa životinjama na farmama i prilikom klanja i kakav to utjecaj u konačnici može imati na samu kvalitetu mesa (Tomasevic i sur., 2020., Heerwagen i sur., 2014.).

## Zaključak

U današnje vrijeme nije bitno samo proizvesti što veće količine proizvoda, nego zadovoljiti potrebe i specifične preferencije potrošača, prema tome potrebno je utvrditi koji sve čimbenici utječu na ponašanje potrošača prilikom kupnje. Informacije o zahtjevima potrošača trebale biti od velike važnosti proizvođačima kako bi proizveli proizvode koje su potrošači spremni platiti i koji zadovoljava njihove želje i potrebe. Glavi čimbenici koji utječu na ponašanje potrošača prilikom kupnje svježeg mesa svinja dijele se u psihološke čimbenike, senzorske i marketinške čimbenike. Prilikom odabira svježeg svinjskog mesa potrošači u obzir uzimaju dvije do četiri karakteristike proizvoda kako bi donijeli odluku o kupnji. Na temelju rezultata istraživanja može se zaključiti kao su potrošačima prilikom odabira svježeg svinjskog mesa i dalje izrazito bitni intrinzični čimbenici kvalitete kao što su vanjski izgled mesa (boja i prožetost masti), ali i da današnji potrošači sve više prilikom kupnje obraćaju pažnju i na marketinške čimbenike (cijena, oznake na proizvodu) kao i socijalne i ekološke karakteristike mesa (dobrobit životinja i utjecaj na okoliš). U današnjim tržišnim uvjetima potrebno je konstantno ispitivati preferencije potrošača kako bi se mogle na pravilan način kreirati marketing strategije namijenjene pojedinim potrošačkim segmentima koji bi u konačnici doveli do povećanja broja kupaca i učestalosti kupnje svježeg svinjskog mesa, a samim time i konkurentne svinjogojске proizvodnje.

## Napomena

Podatci korišteni u ovom radu dio su projekta „Utjecaj intrinzičnih i ekstrinzičnih obilježja kvalitete na preferencije potrošača svježeg svinjskog mesa“ istraživačkog tima Kvaliteta i sigurnost animalnih proizvoda (QualSeq) Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek.

## Literatura

- Brečić R., Mesić Ž., Cerjak C. (2017). Importance of intrinsic and extrinsic quality food characteristics by different consumer segments. *British Food Journal*. 119 (4): 845-862.
- Cerjak M., Petrčić M., Karolyi D. (2017). Effect of Information about Animal Feeding on Consumer Acceptability of Sausages from Turopolje Pig Breed. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 82 (2): 151-154.
- Fenger M.H., Aschemann-Witzel J., Hansen F., Grunert K.G. (2015). Delicious words – Assessing the impact of short storytelling messages on consumer preferences for variations of a new processed meat product. *Food Qual Prefer*. 41: 237-244.
- Font-i-Furnols M., Guerrero L. (2014). Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Science*. 98 (3): 361-371.
- Fortomaris P., Arsenos G., Georgiadis M., Banos G., Stamataris C., Zygoiannis D. (2006). Effect of meat appearance on consumer preferences for pork chops in Greece and Cyprus. *Meat Science*. 72: 688-696.

- Glitsch K. (2000). Consumer perceptions of fresh meat quality: cross-national comparison. *British Food Journal*. 102 (3): 177-194.
- Grgić I., Zrakić M., Hadelan L. (2015). Proizvodno - potrošna bilanca svinjskog mesa u Hrvatskoj. *Meso*. 17 (1): 138-144.
- Grunert K.G., Sonntag W.I., Glanz-Chanos V., Forum S. (2018). Consumer interest in environmental impact, safety, health and animal welfare aspects of modern pig production: Results of a cross-national choice experiment. *Meat Science*. 137: 123-129.
- Heerwagen L. R., Mørkbak M. R., Denver S., Sandøe P., Christensen T. (2014). The Role of Quality Labels in Market-Driven Animal Welfare. *Agric Environ Ethics*. 28: 67-84.
- Jacoby J., Olson J. C., Haddock R. A. (1971). Price, brand name, and product composition characteristics as determinants of perceived quality. *Journal of Applied Psychology*. 55 (6): 570-579.
- Jelić Milković S., Lončarić R., Kristić J. (2018). Potrošačke preferencije mladih potrošača prilikom kupnje prehrambenih proizvoda. *Agroeconomia Croatica*. 8 (1): 1-12.
- Karolyi D. (2004). Promjene u kvaliteti mesa. *Meso*. 6 (5): 18-20.
- Kralik I., Tolušić Z., Jelić S. (2017). Proizvodnja svinjskog mesa u Republici Hrvatskoj i u zemljama Europske unije. *Agroeconomia Croatica*. 7 (1): 66-78.
- Kranjac D., Zmaić K., Erjavec E. (2018). Pregled i perspektiva tržišta svinjskog mesa u Republici Hrvatskoj – simulacija modelom parcijalne ravnoteže. *Agroeconomia Croatica*. 8 (1): 75-83.
- Liljenstolpe C. (2005). Valuing animal welfare with choice experiments: An application to Swedish pig production. Paper prepared for presentation at the 11<sup>th</sup> Congress of the EAAE, 1-13. KVL Copenhagen, Denmark: European Association of Agricultural Economists.
- Lončarić R., Sudarić T., Deže J. (2018). Consumer ethnocentrism on global food market. *Interdisciplinary Management Research XIV*, Barković D., Crnković B., Dernoscheg K.H., Pap N., Runzheimer B., Wentzel D. (eds.), 618-635. Opatija, Hrvatska: Opatija, J.J. Strossmayer University in Osijek, Faculty of Economics in Osijek, Postgraduate Doctoral Study Program in Management, Hochschule Pforzheim University, Croatian Academy of Sciences and Arts.
- Martelli G. (2007). Consumers' perception of farm animal welfare: an Italian and European perspective. *Italian Journal of Animal Science*. 8 (1): 31-41.
- Ngapo T.M., Martin J.F., Dransfield E. (2007). International preferences for pork appearance: I. Consumer choices. *Food Quality and Preference*. 18 (1): 26-36.
- Ortiz A., Díaz-Caro C., Tejerina D., Escribano M., Crespo E., Gaspar P. (2020). Consumption of fresh Iberian pork: Two-stage cluster for the identification of segments of consumers according to their habits and lifestyles. *Meat Science*. 108373: In Press.
- Ripoll G., Panea B. (2019). The Effect of Consumer Involvement in Light Lamb Meat on Behavior, Sensory Perception, and Health-Related Concerns. *Nutrients*. 11: 2-18.
- Stupnišek I., Mesić Ž. (2019). Analiza svjetskog i hrvatskog tržišta svinjskog mesa. *Agronomski glasnik*. 81 (1): 17-34.
- Tomasevic I., Bahelka I., Čitek J., Čandek-Potokar M., Djekić I., Getya A., Guerrero L., Ivanova S., Kušec G., Nakov D., Sołowiej B., Stoica M., Szabó C., Tudoreanu L., Weiler U., Font-i-Furnols M. (2020). Attitudes and Beliefs of Eastern European Consumers Towards Animal Welfare. *Animals*. 10: 2-17.
- Valkaj K., Cerjak M., Kalit S., Rako A., Wendorff W.L. (2013). Do consumers from Medimurje region recognize their autochthonous Turoš cheese? *Mljekarstvo*. 63: 211-219.
- Vanhonacker F., Verbeke W., Van Poucke E., Tuytens F.A.M. (2007). Segmentation based on consumers' perceived importance and attitude toward farm animal welfare. *International Journal of Sociology of Food and Agriculture*. 15 (3): 84-100.
- Verbeke W., Viaene J. (1999). Beliefs, attitude and behaviour towards fresh meat consumption in Belgium: empirical evidence from a consumer survey. *Food Quality and Preference*. 10 (6): 437-445.

## **The importance of intrinsic and extrinsic quality characteristics when buying fresh pork meat - a review of previous research**

### **Abstract**

Pork is an available and affordable source of nutrients in the diet of the population. Meat quality is mainly related to the visual and sensory characteristics of meat that consumers take into account when buying and consuming meat. Consumer attitudes are influenced by a number of social, environmental, health and lifestyle factors and they are often influenced by the economic level of consumer, especially when it comes to extrinsic quality factors. The aim of this paper is to determine which intrinsic and extrinsic quality characteristics influence consumer preferences when buying fresh pork meat, and the results of this research can be used for future research on consumer behaviour and preferences for fresh meat and meat products.

**Key words:** consumers, intrinsic quality factors, extrinsic factors, fresh pig meat

## Uloga poljoprivrede u ruralnom razvoju

Mateja Jež Rogelj<sup>1</sup>, Ornella Mikuš<sup>1</sup>, Tijana Trako Poljak<sup>2</sup>, Lari Hadelan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (mrogelj@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Filozofski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Ivana Lučića 3, Zagreb, Hrvatska*

### Sažetak

Cilj rada je prikazati ulogu poljoprivrede u ruralnom razvoju u Hrvatskoj. Korelacijskom analizom je utvrđeno da postoji srednje jaka negativna povezanost između BDP-a po stanovniku i BDV-a poljoprivrede, šumarstva i ribarstva na županijskoj razini koja u 2017. iznosi  $r = -0,56$ ;  $p < 0,01$ . U sedam hrvatskih županija udio poljoprivrede, šumarstva i ribarstva u ukupnom BDV-u je preko 10 %. Osim osiguravanja hrane, poljoprivreda ima i druge funkcije u ruralnom razvoju kao što su doprinos ruralnoj zaposlenosti i demografskim pokazateljima, očuvanje krajolika i tradicije na ruralnim područjima. Diverzifikacija ruralne ekonomije trebala bi pomoći u zadržavanju ljudi u ruralnim područjima i potaknuti opći ruralni razvoj.

**Ključne riječi:** diverzifikacija, ekonomska uloga, korelacija, poljoprivreda, ruralni razvoj

### Uvod

Površina Hrvatske je 56 594 km<sup>2</sup> od čega je 99,24 % ruralno područje. Poljoprivredne površine prekrivaju oko 40 % ukupne površine, dok na šume otpada oko 36 %. Prema Eurostatu, više od 50 % stanovništva živi u ruralnim područjima (European Commission, 2015.). Poljoprivredno-prehrambeni sektor daje važan doprinos gospodarstvu i prihodima u ruralnim krajevima u Hrvatskoj. Premda je doprinos primarne poljoprivrede gospodarstvu u padu čime se sektor približava njegovom udjelu u gospodarstvu razvijenih članica EU, učinci na cjelokupno gospodarstvo šireg poljoprivredno-prehrambenog sektora u Hrvatskoj su značajni. Procjenjuje se da ulaganje od 1 milijun US dolara u poljoprivrednu proizvodnju generira povećanje od 5,19 milijuna US dolara u vrijednosti ukupnog obujma proizvodnje u gospodarstvu (uključujući učinke potrošnje individualnih potrošača) (Svjetska banka, 2019.).

Premda poljoprivreda nije jedina, a prema statističkim podacima, ni najvažnija djelatnost u ruralnim prostorima, ne može se osporiti njena važnost u očuvanju ruralnog krajolika (European Commission, 2000.), ali i života u ruralnim područjima. Tako Europska komisija navodi da je poljoprivreda tkivo ruralnog društva i, u mnogim zemljama svijeta, glavna gospodarska djelatnost. Sve iznenadne i duboke promjene koje su utjecale na poljoprivredni sektor mogle bi imati ozbiljne posljedice u smislu socijalne i političke stabilnosti u zemljama u razvoju (European Commission, 2000.).

Ruralni je razvoj za vrijeme centralno planske privrede u zemljama središnje i istočne Europe poistovjećivan s poljoprivrednim razvojem. To se promijenilo 2000-tih kada je pozornost preusmjerena na ulogu nepoljoprivrednog sektora u ruralnom razvoju zbog njegovog potencijala za apsorpciju viška radne snage iz poljoprivrede. Na taj su način ublaženi problemi prouzrokovani urbano-ruralnim migracijama, pridonijelo se rastu prihoda i njegovoj jednakomjernijoj raspodjeli (Davis i Pearce, 2001.).

Suvremena definicija pojma “ruralni razvoj“ podrazumijeva integralni i višesektorski te održivi razvoj ruralnog (negradskog) prostora. Integralni, odnosno cjelovit razvoj ruralnih područja bitan je zbog diverzifikacije ruralne ekonomije koja se u vrijeme suvremenih strukturnih procesa i zbivanja suočava s brojnim problemima poput depopulacije, starenja stanovništva, fosilizacije pejzaža te generalno sve lošijim socio-ekonomskim pokazateljima koji čine ovaj prostor pasivnim i nepoželjnim za život (HMRR, 2020.).

Cilj rada je prikazati ulogu poljoprivrede u ruralnom razvoju u Hrvatskoj pomoću udjela BDV-a iz poljoprivrede, šumarstva i ribarstva u ukupnom BDV-u, broja poljoprivrednih gospodarstava i udjela stanovništva koje ima OPG.

### **Materijal i metode**

U radu je korištena metoda korelacije kojom je izračunata povezanost varijabli bruto domaćeg proizvoda (BDP) po stanovniku i bruto dodane vrijednost (BDV) poljoprivrede, šumarstva i ribarstva po stanovniku u razdoblju od 2008. do 2017. godine. U izračunu udjela stanovništva s vlastitim poljoprivrednim gospodarstvom (PG) korišteni su podatci Državnog zavoda za statistiku (DZS) o procjeni broja stanovnika u hrvatskim županijama iz 2020. godine. Izvor podataka za BDP i BDV također je DZS. Navedeni podatci su na županijskoj razini dostupni do uključivo 2017. godine. Podatci vezani uz broj poljoprivrednih gospodarstava su preuzeti sa službenih stranica Agencije za plaćanja u poljoprivredi, šumarstvu i ribarstvu i dostupni su za razdoblje od 2016. do 2019. godine.

### **Rezultati i rasprava**

BDP/stanovniku je u Hrvatskoj 2017. godine iznosio 88.726 kn dok su poljoprivreda, šumarstvo i ribarstvo u ukupnom BDV-u sudjelovali s 3,6 % (DZS, 2020.), što je nešto iznad razine najrazvijenijih zemalja EU (European Commission, 2020.). Najviši BDP/stanovniku u 2017. godini imao je Grad Zagreb (155.541 kn), a najniži Virovitičko-podravska županija (48.080 kn) koju slijede Požeško-slavonska (49.604 kn) i Brodsko-posavska (49.885 kn). BDV poljoprivrede, šumarstva i ribarstva po stanovniku je u 2017. godini bio najniži u Gradu Zagrebu (278 kn), a najviši u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji, čak 9.553 kn (Tablica 1).

Korelacijskom analizom je utvrđeno da postoji srednje jaka negativna povezanost između BDP-a po stanovniku i BDV-a poljoprivrede, šumarstva i ribarstva na županijskoj razini koja se u razdoblju od 2008. do 2017. kreće od  $r = -0,517$  do  $r = -0,574$ ;  $p < 0,01$ . Rezultat je očekivan s obzirom na činjenicu da je poljoprivreda primarna gospodarska djelatnost koja ima manju dohodovnost u odnosu na druge gospodarske djelatnosti te se s razvojem gospodarstva njezina važnost smanjuje u odnosu na dohodovnije djelatnosti. To je vidljivo i na primjeru triju županija u kojima je nizak BDP po stanovniku (manje od 50.000 kn) dok je udio poljoprivrede, šumarstva i ribarstva u BDV-u vrlo visok te iznosi: u Virovitičko-podravskoj 15,8 %, Vukovarsko-srijemskoj 13,4 % i Požeško-slavonskoj 11,2 %.

Premda visok udio poljoprivrede u BDP-u ukazuje na ekonomsku nerazvijenost područja, također ukazuje i na relativnu važnost sektora i određuje njegov potencijalni ekonomski doprinos ruralnom razvoju (European Commission, 2000.). U regijama u kojima je poljoprivreda primarna gospodarska djelatnost i zapošljava velik udio stanovništva, je jasno da je ukupna socijalna i politička stabilnost neraskidivo povezana sa stanjem u poljoprivrednom sektoru (European Commission, 2000.).

Tablica 1. BDP i BDV iz poljoprivrede, šumarstva i ribarstva po stanovniku u hrvatskim županijama u kunama

	2016.		2017.	
	BDP/st.	BDV poljoprivrede, šumarstva i ribarstva/st.	BDP/st.	BDV poljoprivrede, šumarstva i ribarstva/st.
Republika Hrvatska	78.220	2.337	88.726	2.605
Grad Zagreb	140.983	270	155.541	278
Zagrebačka	59.098	2.078	67.457	2.446
Krapinsko-zagorska	49.163	1.380	57.918	1.589
Varaždinska	64.401	1.739	75.514	2.072
Koprivničko-križevačka	60.693	6.444	67.363	7.581
Međimurska	64.690	3.813	74.280	4.371
Bjelovarsko-bilogorska	52.134	8.002	59.214	9.553
Virovitičko-podravska	42.304	5.351	48.080	6.257
Požeško-slavonska	44.108	4.145	49.604	4.577
Brodsko-posavska	42.280	3.236	49.885	3.777
Osječko-baranjska	60.784	5.421	67.657	6.283
Vukovarsko-srijemska	44.057	5.075	52.026	5.743
Karlovačka	57.550	2.152	64.668	2.444
Sisačko-moslavačka	56.943	3.211	61.593	3.653
Primorsko-goranska	100.038	886	108.365	870
Ličko-senjska	59.626	6.075	69.201	6.062
Zadarska	62.153	2.609	73.601	3.215
Šibensko-kninska	61.684	820	72.466	859
Splitsko-dalmatinska	60.094	833	68.226	812
Istarska	97.701	1.263	110.906	1.212
Dubrovačko-neretvanska	78.595	1.564	93.810	1.529

Izvor: izrada autora prema podacima DZS-a (2020.)

Hrvatske županije u kojima je poljoprivreda od velikog značaja s obzirom na njen udio u ukupnom BDV-u (više od 10 %) su Bjelovarsko-bilogorska (19,53 %), Virovitičko-podravska (15,76 %), Koprivničko-križevačka (13,63 %), Vukovarsko-srijemska županija (13,36 %), Osječko-baranjska (11,24 %), Požeško-slavonska (11,17 %) i Ličko-senjska (10,61 %) (Tablica 2).

Udio stanovništva s vlastitim poljoprivrednim gospodarstvom (PG) je najviši u Bjelovarsko-bilogorskoj (10,27 %), Ličko-senjskoj (10,26 %) te Koprivničko-križevačkoj županiji (9,16 %) što dodatno ukazuje na važnost poljoprivrede u tim županijama.

Tablica 2. Udio BDV-a poljoprivrede, šumarstva i ribarstva u ukupnom BDV-u i broj PG-ova u hrvatskim županijama u 2017. godini.

	Udio poljoprivrede, šumarstva i ribarstva u BDV-u	Broj poljoprivrednih gospodarstava	Udio stanovništva koje ima PG
Republika Hrvatska	3,55	164.412	3,98
Grad Zagreb	0,22	5.896	0,73
Zagrebačka	4,39	14.138	4,53
Krapinsko-zagorska	3,32	8.398	6,64
Varaždinska	3,32	8.216	4,87
Koprivničko-križevačka	13,63	10.012	9,16
Međimurska	7,12	4.863	4,38



Bjelovarsko-bilogorska	19,53	11.279	10,27
Virovitičko-podravska	15,76	6.510	8,43
Požeško-slavonska	11,17	5.163	7,39
Brodsko-posavska	9,17	7.218	5,01
Osječko-baranjska	11,24	12.479	4,40
Vukovarsko-srijemska	13,36	7.295	4,56
Karlovačka	4,58	5.821	4,91
Sisačko-moslavačka	7,18	8.898	5,82
Primorsko-goranska	0,97	3.673	1,28
Ličko-senjska	10,61	4.716	10,26
Zadarska	5,29	7.497	4,44
Šibensko-kninska	1,44	5.372	5,29
Splitsko-dalmatinska	1,44	12.770	2,84
Istarska	1,32	6.030	2,90
Dubrovačko-neretvanska	1,97	8.168	6,72

Izvor: izrada autora prema podatcima DZS-a (2020.) i APPRRR (2018.)

No poljoprivredu ne treba promatrati samo kroz dohodak nego i kroz njene ostale funkcije u ruralnom području kao što su očuvanje krajolika (European Commission, 2000.) i ostanak ljudi na tom području, vlastita proizvodnja hrane, očuvanje tradicije i drugo što pridonosi vitalnosti ruralnih područja i države u cjelini.

Kako bi očuvali ruralna područja od zapuštanja i izumiranja potrebno je uložiti u njihov razvoj ne samo kroz poljoprivredu nego i kroz druge djelatnosti koje će poljoprivredi dati dodanu vrijednost te diverzificirati ruralnu ekonomiju i otvoriti radna mjesta koja će potaknuti ljude na ostanak, ali i preseljenje u ruralne krajeve.

### Napomena

Ovaj rad je nastao u sklopu Uspostavnog projekta Hrvatske zaklade za znanost "Socijalno-ekološki izazovi ruralnog razvoja - SECRRURAL" (UIP-2019-04-5257) 2020. - 2024.

### Zaključak

Korelacijskom analizom je utvrđeno da postoji srednje jaka negativna povezanost između BDP-a po stanovniku i BDV-a poljoprivrede, šumarstva i ribarstva na županijskoj razini koja se u razdoblju od 2008. do 2017. kreće od  $r = -0,517$  do  $r = -0,574$ ;  $p < 0,01$ . Iz navedenog je vidljivo da je poljoprivreda nisko dohodovna djelatnost, no njena uloga u razvoju ruralnih područja je neosporna. Premda poljoprivreda na nacionalnoj razini nema veliki ekonomski značaj (3,55 % BDV-a) na županijskoj je razini situacija znatno drugačija. U sedam hrvatskih županija (Bjelovarsko-bilogorskoj, Virovitičko-podravskoj, Koprivničko-križevačkoj, Vukovarsko-srijemskoj, Osječko-baranjskoj, Požeško-slavonskoj i Ličko-senjskoj) njen je udio u BDV-u preko 10 %. Osim ekonomske, poljoprivreda ima i druge funkcije u ruralnom razvoju kao što su očuvanje krajolika i tradicije na ruralnim područjima i vlastita proizvodnja hrane. Sve navedeno je manje važno ukoliko u ruralnim područjima nema stanovništva te stoga treba ulagati sredstva u diverzifikaciju ruralne ekonomije koja će potaknuti otvaranje radnih mjesta i ostanak ljudi na tim područjima jer ih sama poljoprivreda sa svojom niskom dohodovnošću neće zadržati.

## Literatura

- Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju (2018). Upisnik poljoprivrednika. Raspoloživo: <https://www.aprrr.hr/upisnik-poljoprivrednika/>
- Davis J., Pearce D. (2001). The Non-Agricultural Rural Sector in Central and Eastern Europe. Objavljeno u: *The Challenge of Rural Development in the EU Accession Process*. Third World Bank/FAO Accession Workshop in the Rural Sector Csaki C. and Lerman Z. (ed.), 17-20. Sofia, Bulgaria: World bank.
- Državni zavod za statistiku (2020). Bruto domaći proizvod za Republiku Hrvatsku. NKPJS 2012. – 2. razina i županije u 2017. Raspoloživo: [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2020/12-01-03\\_01\\_2020.htm](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2020/12-01-03_01_2020.htm)
- European Commission (2020). EU country factsheets. Raspoloživo: [https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/farming/facts-and-figures/performance-agricultural-policy/agriculture-country/eu-country-factsheets\\_en](https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/farming/facts-and-figures/performance-agricultural-policy/agriculture-country/eu-country-factsheets_en)
- European Commission (2015). Factsheet on the Rural Development Programme 2014-2020 of Croatia. Raspoloživo: [https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/food-farming-fisheries/key\\_policies/documents/rdp-factsheet-croatia\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/food-farming-fisheries/key_policies/documents/rdp-factsheet-croatia_en.pdf)
- European Commission (2000). Agriculture's Contribution to Rural Development, International Conference on Non-Trade Concerns in Agriculture, Discussion Paper Two. Ullensvang, Norway, 2-4 July 2000. Raspoloživo: [https://www.iatp.org/sites/default/files/Agricultures\\_Contribution\\_to\\_Rural\\_Development.pdf](https://www.iatp.org/sites/default/files/Agricultures_Contribution_to_Rural_Development.pdf)
- HMRR (2020). Što je ruralni razvoj? Raspoloživo: <https://hmrr.hr/ruralni-razvoj/> Sahoo G., Wani A.M., Satpathy B., Rout S. (2020.). Agriculture and Rural Development for Sustainability. In: *Agriculture and Rural Development: Spatial Issues, Challenges and Approaches*, Pawar N.B. (ed.), 75-82. Pune, India, Santosh Pandurang Mane Jyotikiran Publication.
- Svjetska banka (2019). Stanje sektora i analiza javnih izdataka za poljoprivredu i ruralni razvoj. Raspoloživo: <https://poljoprivreda2020.hr/wp-content/uploads/2019/08/Dijagnosti%C4%8Dka-analiza-Poljoprivreda.pdf>
- Veleučilište u Rijeci (n.a.). Korelacijska i regresijska analiza. Raspoloživo: [https://www.veleri.hr/files/datotekep/nastavni\\_materijali/k\\_poduzetnistvo\\_s1/Kvantitativne\\_zna\\_poduzetnike\\_Pr2\\_Izv.pdf](https://www.veleri.hr/files/datotekep/nastavni_materijali/k_poduzetnistvo_s1/Kvantitativne_zna_poduzetnike_Pr2_Izv.pdf)

## The role of agriculture in rural development

### Abstract

The aim of this paper is to present the role of agriculture in rural development in Croatia. Correlation analysis found that there is a medium-strong negative correlation between GDP per capita and GVA of agriculture, forestry and fisheries at the county level, which in 2017 was  $r = -0.56$ ;  $p < 0.01$ . In seven Croatian counties, the share of agriculture, forestry and fisheries in the total GVA is over 10 %. In addition to food security, agriculture has other functions in rural development such as contributing to rural employment and demographic indicators, preserving landscape and tradition in rural areas. Diversification of the rural economy should help to retain people in rural areas and encourage general rural development.

**Key words:** agriculture, correlation, diversification, economic role, rural development

## Kvantifikacija utjecaja sezonskog faktora na cijene paprike rog, krastavca i kornišona

Josip Juračak<sup>1</sup>, Marija Purić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (jjuracak@agr.hr)*

### Sažetak

Zbog velikih sezonskih promjena u ponudi, cijene paprike i krastavaca mijenjaju se tijekom godine. U ovom radu provedena je analiza sezonskih promjena cijena paprike rog, krastavca salatnog i kornišona na mjesečnim serijama za razdoblje 2014. - 2019. Primjenom metode odnosa prema pomičnim prosjecima procijenili smo indekse sezonosti. Ocjene sezonskog utjecaja dobivene ovom metodom usporedili smo s rezultatima regresijske metode. Cijene paprike rog su više za 45 %, a krastavca salatnog za 52 % u ožujku zbog sezonskog faktora. Cijene krastavca najniže su u kolovozu, a paprike rog u rujnu, i to za 44 %. Kornišon je na tržištu od svibnja do listopada, a utjecaj sezone na cijene je -14 % do +23 %. Vrlo male razlike u rezultatima dobivenim različitim metodama daju prednost primjeni jednostavnijih metoda u praksi.

**Ključne riječi:** sezonalnost, pomični prosjeci, regresijski model, cijene povrća, prihodi

### Uvod

Bitno obilježje biljne poljoprivredne proizvodnje jest njezina sezonalnost ili sezonost, koja je posljedica uvjetovanosti proizvodnog ciklusa vegetacijskim ciklusom biljke. Kod većine proizvođača povrća vegetacijski ciklus je vezan uz razdoblje u godini u kojem su uvjeti za uzgoj povoljni (Lešić i sur., 2006.). Zbog toga najveće količine proizvoda dolaze na tržište u istom razdoblju, a s obzirom da se radi o proizvodima koji imaju kratki vijek na polici, velika količina ponude uzrokuje pad cijena na tržištu. Prirodni čimbenici i biološko obilježje poljoprivredne proizvodnje imaju najveći utjecaj na kolebanje cijena jer ih je teško i skupo kontrolirati i prilagođavati im se (Kovačić i Juračak, 1993.). U današnje vrijeme kad utjecaj klimatskih promjena postaje sve uočljiviji, izazov smanjenja njihovih negativnih posljedica postaje sve veći i odgovori na izazove sve skuplji. Zbog toga je potrebno voditi stalnu brigu o prihodima, koji izravno ovise o prodajnoj cijeni koju proizvođač može ostvariti.

Za razliku od nekih drugih proizvoda kod kojih je sezonalnost uvjetovana velikim povećanjem potražnje u kraćem razdoblju, a zatim padom na uobičajenu razinu u drugim razdobljima (npr. krizanteme, jagode, kesten), u proizvodnji većine povrća za svježju potrošnju sezonalnost uzrokuje ponuda. Iako je u zaštićenim prostorima omogućena proizvodnja i izvan sezone vegetacije, količina te proizvodnje nije dovoljna, a cijena proizvodnje je znatno viša od proizvodnje u sezoni (Agroklub, 2018.). U ovom radu istražili smo sezonska kolebanja cijena na primjerima svježe paprike rog, salatnog krastavca i kornišona.

Cilj je bio utvrditi veličinu, dinamiku i prirodu tih kolebanja kako bi dobili informacije korisne za proizvođače u procesu donošenja odluka o strukturi i dinamici proizvodnje, što bi u konačnici trebalo omogućiti ostvarenje većih prihoda i dohotka.

## Materijal i metode

Za potrebe praćenja cijena kao sezonske pojave korišteni su sekundarni podaci, odnosno cijene pojedinih proizvoda, s mrežnih stranica Tržišno-cjenovnog i informacijskog sustava u poljoprivredi (TISUP-a). Korištene su prosječne mjesečne cijene za razdoblje od 2014. do 2019. godine. Sezonski utjecaji analizirani su primjenom metode odnosa prema pomičnim prosjecima i regresijskog modela sezonske pojave. Obje metode polaze od općeg modela vremenske pojave koji u aditivnom obliku glasi (Šošić i Serdar, 1997.):

$$Y = T + C + S + u$$

Ovaj model uz sezonsku komponentu (S) vremenske pojave sadrži i komponente trenda (T) i ciklusa (C) te slučajnu komponentu (u). Za izračun pomičnih prosjeka cijena korištena je formula za centrirane mjesečne pomične prosjeke zbog parnog broja razdoblja (12 mjeseci) (Šošić, 2006.):

Na temelju pomičnih prosjeka za cijelo razdoblje, izračunati su sezonski faktori i sezonski indeksi za pojedini mjesec u godini. U mjesecima koji imaju indekse više od 100, cijena je viša zbog utjecaja sezone, a u suprotnom cijena je manja.

Regresijska analiza je provedena na kvartalnim serijama cijena. Korišten je multiplikativni model u kojem je vremenska komponenta (godina) predložena polinomom drugog stupnja:

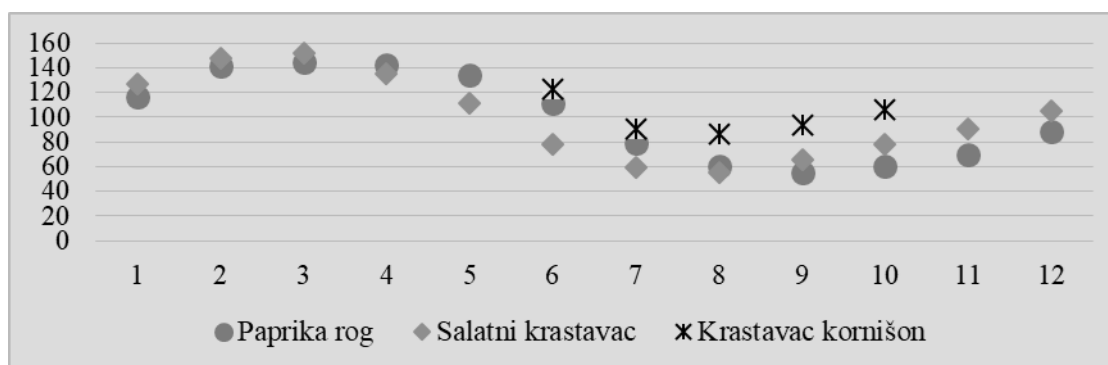
Sezonski utjecaj mjereno je u odnosu na prvi kvartal tako da imamo tri indikatora kvartala u modelu ( $Q_1$  do  $Q_3$ ). Procjena parametara  $a$  i  $b_i$  provedena je prema metodi najmanjih kvadrata na logaritamski transformiranom multiplikativnom modelu u programu MS Excel, dodatak Data Analysis.

## Rezultati i rasprava

Paprika rog u Hrvatskoj se uzgaja u Dalmaciji, Istri, Istočnoj Slavoniji i Baranji (uz rijeku Dravu) te uz rijeku Savu (Agroklub, 2019.). Hrvatska je u 2017. godini imala rekordnu proizvodnju paprike od 19.303 t i prinos 16,4 t/ha (DZS, 2019.). Cijene paprike rog niske su od lipnja do listopada kada je vrijeme berbe u uzgoju na otvorenom. Najviše cijene su pred prvu berbu, tj. u travnju i svibnju. Gledano po godinama, 2018. godine cijene u sezoni su bile najviše. Proizvodnja krastavca u Republici Hrvatskoj je tijekom promatranog razdoblja u porastu i iznosi do 10.000 t, s velikim godišnjim kolebanjima (DZS, 2019.). Analizirali smo cijene dvije vrste krastavaca s različitim namjenama: salatnog krastavca za svježju potrošnju i kornišona za preradu. Cijene salatnog krastavca padaju od travnja, pa ponovo rastu nakon kolovoza. Krastavac kornišon na tržištu je uglavnom samo od svibnja do studenog, a najniža cijena mu je u jeku berbe u kolovozu. Salatni krastavac najvišu cijenu ima obično u veljači i ožujku, a kornišon početkom razdoblja berbe i na kraju ovog razdoblja.

Analiza primjenom metode odnosa prema pomičnim prosjecima pokazala je da su sezonska kolebanja cijena paprike rog i krastavca sezonskog vrlo slična po dinamici i veličini. Razlika je u tome što sezona kod paprike rog nastupa u pravilu mjesec dana nakon krastavca salatnog. Sezonski indeksi cijena za papriku rog iznose od 55,2 u rujnu do 144,8 u ožujku (Grafikon 1), a koeficijent varijacije sezonskih faktora je 0,339. Možemo, dakle, procijeniti da će zbog

utjecaja sezone cijena paprike rog u rujnu biti manja za 44,8 %, a u ožujku viša za 44,8 % nego za slučaj bez utjecaja sezone.

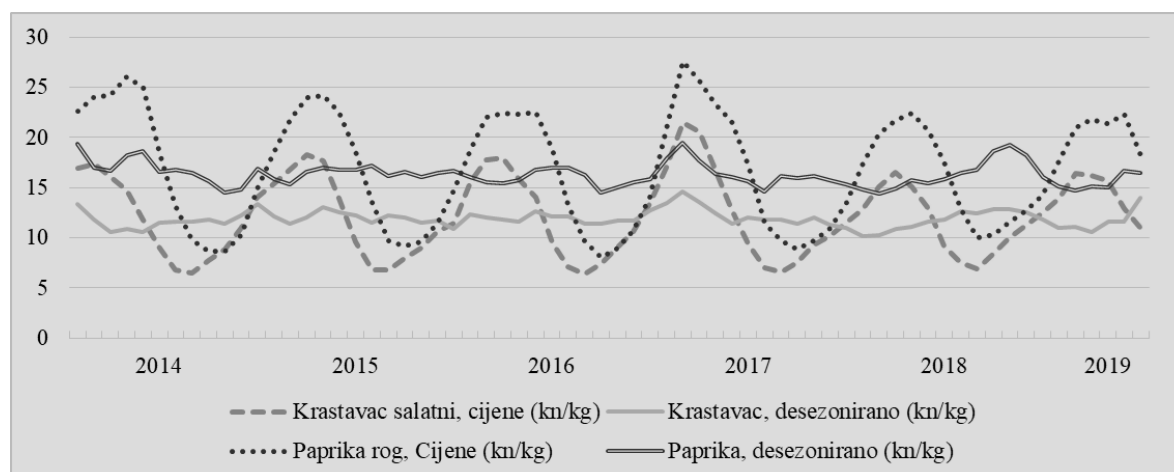


Grafikon 1. Sezonski indeksi cijena za papriku rok, krastavac salatni i kornišon

Izvor: Obrada autora prema podacima TISUP, <http://www.tisup.mps.hr>

Sezonski indeksi cijena krastavca salatnog su između 55,7 u kolovozu i 152,3 u ožujku. Koeficijent varijacije sezonskih faktora po mjesecima je 0,329 za krastavac salatni, što ukazuje na neznatno manju varijabilnost u odnosu na papriku rog. Na vrhuncu sezone krastavca salatnog možemo očekivati 44,3 % niže cijene zbog sezonske ponude, a van sezone cijena će biti i do 52,3 % viša. Kod krastavca za preradu, odnosno, kornišona, sezonski indeksi za razdoblje od šest mjeseci (lipanj-listopad) iznose od 85,85 (kolovoz) do 122,70 (lipanj), dok je koeficijent varijacije 0,133.

Na Grafikonu 2 su prikazane cijene po mjesecima i desezonirane cijene po mjesecima za papriku rog i krastavac salatni.



Grafikon 2. Cijene i desezonirane cijene paprike rog i krastavca salatnog 2014. - 2019.

Izvor: Obrada autora prema podacima TISUP, <http://www.tisup.mps.hr>

Analiza sezonskih kolebanja cijena odabranih vrsta povrća provedena je i primjenom multiplikativnog regresijskog modela. U ovom slučaju provedena je analiza tromjesečnih ili kvartalnih serija cijena, a sezonske varijacije mjere se mjere relativnim odnosom prema prvom kvartalu. Radi mogućnosti usporedbe rezultata po dvije metode, relativni odnosi sezonskih varijacija po kvartalima izračunati su dodatno i za prema pomičnim prosjecima. Usporedba dobivenih ocjena sezonskih utjecaja prikazana je u Tablici 1. Uočavamo da će zbog sezonskog utjecaja cijene biti najviše u prvom kvartalu za papriku i krastavac salatni, odnosno, u drugom kvartalu za kornišon. Također vidimo da vrijednosti za papriku rog i

krastavac salatni imaju istu trend mijenjanja, s tim da je relativna razlika između 3. i 1. kvartala nešto veća kod krastavca salatnog. Cijena krastavca salatnog u 3. kvartalu je 57,8, odnosno 57,2 % niža nego u prvom kvartalu.

Tablica 1. Ocjena utjecaja sezone na cijene povrća po kvartalima primjenom metode odnosa prema pomičnim prosjecima i regresijske analize

Kvartal	Paprika rog		Krastavac salatni		Krastavac kornišon	
	Pomični prosjeci	Regresijski model	Pomični prosjeci	Regresijski model	Pomični prosjeci	Regresijski model
1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
2	0,963	0,980	0,763	0,768	0,718	0,738
3	0,481	0,486	0,422	0,428	0,867	0,890
4	0,540	0,540	0,641	0,650		

Ono što je bitno istaknuti jesu vrlo male razlike u dobivenim ocjenama sezonskih utjecaja primjenom različitih metoda. Glavni čimbenici koji utječu na poslovne prihode u proizvodnji povrća jesu prodajna cijena i količina prodaje. Zbog toga su za proizvođača od iznimne važnosti informacije o kretanjima cijena i alati koji mogu pomoći u planiranju cijena tijekom sezone ili izvan nje. Analiza sezonskih kolebanja cijena daje rezultate koji se mogu primijeniti na modele kalkulacija proizvodnje. Za primjer, primijenili smo dobivene sezonske faktore na podatke o cijenama i prinosu promatranih kultura iz modelskih kalkulacija proizvodnje povrća (Ministarstvo poljoprivrede, 2018.) (Tablica 2).

Tablica 2. Procjena prihoda uz maksimalne i minimalne cijene prema sezonskim faktorima

Kultura	Razdoblje (mj.u god.)	Prosječna cijena (kn)	Sezonski faktor	Sezonska cijena (kn)	Prinos (kg ha <sup>-1</sup> )	Prihod (kn ha <sup>-1</sup> )
	1.	15,98	1,1651	18,62	25.000	465.457
Paprika rog	8.	15,98	0,5989	9,57	25.000	239.261
Salatni krastavci	4.	11,52	1,3565	15,63	150.000	2.344.032
Krastavci kornišon	8.	11,52	0,5566	6,41	150.000	961.805
	6.	10,53	1,2267	12,92	40.000	516.686
	8.	10,53	0,8585	9,04	40.000	361.600

Izračunati su prihodi za ekstremne hipotetske slučajeve cijena, odnosno cijene u mjesecima s najvišim i najnižim sezonskim faktorom. Ovako pojednostavljen pogled jasno ukazuje u kojoj mjeri se mogu razlikovati prihodi s obzirom na razdoblje prodaje u godini zbog sezonskog utjecaja.

## Zaključak

Poznavanje sezonskih kolebanja cijena omogućava bolje planiranje i upravljanje proizvodnjom povrća. Proizvođaču pomaže pri odluci o ulaganju i promjenama u proizvodnji koje bi mu mogle omogućiti prodaju pri za njega povoljnijim cijenama. Analiza kolebanja cijena paprike rog, salatnog krastavca i kornišona po mjesečnim serijama pokazala je da sezonski faktor igra vrlo veliku ulogu u dinamici cijena. Zbog utjecaja sezone cijene su u mjesecima velike ponude manje za 45 %, a u mjesecima slabe ponude više i za 50 %. Sama provedba analize sezonskih kolebanja cijena može dati zadovoljavajuće rezultate i primjenom jednostavnih metoda, što smo ustanovili usporedbom rezultata dobivenih primjenom pomičnih prosjeka s rezultatima dobivenim multiplikativnim regresijskim modelom. Ovim radom želimo potaknuti voditelje poljoprivrednih gospodarstava na primjenu analize promjena cijena u sezoni, a isto tako i stručnu i znanstvenu zajednicu na

slična istraživanja koja mogu pomoći u procesu odlučivanja na poljoprivrednim gospodarstvima.

### Napomena

Rad je nastao na temelju istraživanja za potrebe izrade završnog rada studentice Marije Purić pod mentorstvom doc. dr. sc. Josipa Juračaka.

### Literatura

- Dombaj S. (2019). Oblikovanje plasteničke paprike. Raspoloživo: <https://www.agroklub.com/povrcarstvo/oblikovanje-plastenicke-paprike/48993/>
- Državni zavod za statistiku (2019). Baze podataka. Raspoloživo: <https://www.dzs.hr/>
- Ivić M. (2018). Ljeto zaborava za plasteničku proizvodnju, lošu sezonu najavio pipun, nastavile rajčice, paprika i krastavci. Raspoloživo: <https://www.agroklub.com/povrcarstvo/ljeto-zaborava-za-plastenicu-proizvodnju-losu-sezonu-najavio-pipun-nastavile-rajcice-paprika-i-krastavci/44663/>
- Kovačić D., Juračak J. (1993). Analysis of egg prices fluctuations in Croatia. Objavljeno u : *9th International Farm Management Congress. Contributed papers II, 11-17 July 1993*, Forghach C. (ed.), 129-135. Budapest, Hungary: IFMA.
- Lešić R., Borošić J., Buturac I., Herak Ćustić M., Poljak M., Romić D. (2016). Povrcarstvo. Čakovec, Hrvatska: Zrinski.
- Ministarstvo poljoprivrede (2018). Katalog kalkulacija pljoprivredne proizvodnje. Raspoloživo: <https://www.savjetodavna.hr/product/katalog-kalkulacija-poljoprivredne-proizvodnje/>
- Šošić I. (2006). Primijenjena statistika. Zagreb, Hrvatska: Školska knjiga.
- Šošić I., Serdar V. (1997). Uvod u statistiku. Zagreb, Hrvatska: Školska knjiga.
- Tržišni cjenovni informacijski sustav u poljoprivredi (TISUP) (2019). Prikaz cijena u kn/kg za grupu proizvoda / Voće i povrće. Raspoloživo: <http://www.tisup.mps.hr/>

## Quantifying the effect of seasonal factor on bullhorn pepper, cucumber and gherkin

### Abstract

Due to large seasonal variations in supply, prices of peppers and cucumbers change throughout the year. In this paper, an analysis of seasonal changes in monthly prices of bull horn peppers, cucumbers and gherkins for the period 2014 - 2019 was conducted. Using the moving averages method, we estimated the seasonality indices. The seasonal impact estimates obtained using this method were compared with the results obtained using the regression method. Due to the seasonal effect, bullhorn pepper prices are 45 % higher and cucumber prices are 52 % higher in March. The prices of cucumber are lowest in August and bullhorn pepper in September, both by 44 %. The gherkin is on the market from May to October, and the effect of season on prices is -14 % to + 23 %. Very small differences in the results obtained by different methods give preference to the use of simpler methods in practice.

**Key words:** seasonality, moving averages, regression model, vegetable prices, revenues.

## Mišljenje studenata o učinkovitosti komunikacijskih kanala i atributa za brendiranje Slavonije

Ivan Kelić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Ekonomski fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Trg Ljudevita Gaja 7, Osijek, Hrvatska (ivan.kelic@efos.hr)*

### Sažetak

Zbog svoje kompleksnosti turizam možemo atribuirati kao jedan od najbrže rastućih sektora u aktualnom vremenu. Iako se turistička ponuda Slavonije konstantno unaprjeđuje te se kontinentalni turizam pozicionirao na turističkoj karti, postavlja se pitanje što domicilno stanovništvo smatra da su najprepoznatljivija obilježja Slavonije kao turističke destinacije i koje kanale promocije smatraju najučinkovitijima za informiranje o turističkim sadržajima u Slavoniji. Iako turistička promocija nije usmjerena ciljano prema domicilnom stanovništvu, nužno je obuhvatiti u promociji domicilno stanovništvo kako bi postali prijenosnici sadržaja, odnosno tzv. evangelisti. Navedenim obuhvatom moguće je postići viralni učinak promocije turističkih destinacija na kontinentu kroz dobrovoljno dijeljenje informacija o destinaciji što posljedično može dovesti do neplaćene promocije. Kroz istraživanje cilj je spoznati, koje komunikacijske kanale ispitanici smatraju najučinkovitijim za dobivanje informacija o turističkim sadržajima na području Slavonije te koji atributi mogu poslužiti za brendiranje turističke ponude Slavonije.

**Ključne riječi:** turizam, internetski marketing, kontinentalni turizam, promocija

### Uvod

Razvoj kontinentalnog turizma temelji se na jasnoj misiji i viziji o uravnoteženom razvoju turizma te ima za cilj stvaranje preduvjeta za privlačenje što većeg broja turista kroz atrakcijske sadržaje i kroz iskorištavanje prirodnih dobara i infrastrukturne vrijednosti promatranog područja. Stvaranje i brendiranje turističke destinacije predstavlja uključivanje i udruživanje te vidljivo vanjsko prikazivanje svih opipljivih i neopipljivih elemenata koje posjeduje destinacija gdje se umjesto tradicionalnog modela brendiranja 4S (*sand, sea, sun, sex*) prelazi na brendiranje prema modelu 6E (*escape, education, ecology, entertainment, excitement, experience*) (Kos, 2013.). Posljednjih godina cilj stvaratelja turističkog sadržaja okrenut je prema transformaciji Hrvatske u turističku destinaciju koja nudi više od obiteljskog odmora, više od ljeta i više od sunca i mora. U osnovi hrvatski turizam još uvijek obilježava (Glavni plan i strategija razvoja turizma Republike Hrvatske 2014. - 2020.):

- nedovoljna diferenciranost proizvoda i usluga
- pomanjkanje inovativnih i kvalitetnijih sadržaja boravka gostiju
- nedovoljno dobra povezanost zračnim i morskim putem
- statičan sustav nacionalnog marketinga
- premalen broj globalno brendiranih turističkih destinacija
- neadekvatna turistička infrastruktura destinacija
- naslijeđena orijentacija lokalnog stanovništva prema sezonskom poslovanju.

Ključni potrošački segmenti definirani kao ciljana tržišta prema glavnom planu i strategiji razvoja turizma Republike Hrvatske 2014. – 2020. mogu se svrstati u nekoliko različitih grupa: Mladi (18 - 24 godine), DINKS (parovi s dvostrukim primanjima, bez djece), Obitelji - segment obitelji uključuje one s mlađom djecom (djeca do 7 godina) i obitelji sa starijom



djecom (8 - 14 godina). *Empty nesters* (radno aktivni ljudi čija su djeca napustila roditeljski dom i žive samostalno; 50 - 65 godina), Zlatna dob (umirovljenici bez većih zdravstvenih problema, 65+ godina), Specijalizirani organizatori poslovnih putovanja. U radu je fokus na segment Mladi (18 - 24 godine) budući da priroda i kultura naročito privlače mlade i obrazovane turiste, kojima su to primarni interesi putovanja (Richards, 2002.; Kos, 2013.). Upravo su priroda i kultura jedni od atributa koje može ponuditi Slavonija. Na mlađu populaciju turista snažno utječe rapidan razvoj i svakodnevno korištenje suvremenih tehnologija koje su lako dostupne. Zahtjevi promatrane populacije su brža i jeftinija putovanja gdje se pri tome oslanjaju na različite sadržaje u online okruženju u obliku planera putovanja gdje unaprijed planiraju dolazak i aktivnosti u odredištu. Turizmu kao sektoru djelatnosti svakodnevno pristupaju milijuni pojedinaca od kojih možemo istaknuti dva ključna segmenta: turiste - koji uživaju u blagodatima turizma i s druge strane turističke djelatnike koji koriste turizam kao gospodarsku djelatnost za ostvarenje prihoda. Nužno je istaknuti kako oba promatrana segmenta kreiraju različite sadržaje koji posljedično mogu brendirati destinaciju. Prema Buhalisu (2002.) smisao marketinga turističke destinacije je djelovati kao instrument optimizacije učinaka turizma i postignuća stratejskih ciljeva, usmjerenih ka zadovoljenju potreba i želja svih dionika konkretne turističke destinacije. Stoga je nužno prilagoditi komunikacijske kanale s ciljem brendiranja destinacije.

### Marketinške aktivnosti Slavonije kao turističke destinacije

U ovome trenutku, s obzirom na situaciju uzrokovanu pandemijom COVID-19, te i prije pandemije, turistička kretanja u Slavoniji skromnija su u odnosu na turistički razvijenije dijelove Hrvatske. U cijeloj regiji, u prosjeku se ostvaruje (promatrano razdoblje prije 2020. godine) nešto manje od 500.000 noćenja godišnje u 10 tisuća ležajeva dok je primjerice u Istri ostvareno preko 27 milijuna noćenja u 2019. godini (HTZ: eVisitor). Ove brojke valja promatrati u kontekstu kako Hrvatska ima razvijen turizam, ali je potrebno pravilno disperzirati potencijale i mogućnosti intenzivnijeg razvoja turizma na cijelom prostoru (Strateški marketinški plan turizma Slavonije s planom brendiranja za razdoblje 2019.-2025.). Hrvatska kao turistička destinacija posjeduje raznolike turističke potencijale, odnosno attribute tržišnog pozicioniranja. Temeljeći se na atributima tržišne pozicioniranosti, zadaća brendiranja turističke destinacije je jačanje prepoznatljivosti na turističkom tržištu, odnosno, postizanje svjesnosti o destinaciji od strane potencijalnih turista i njihovo privlačenje radi turističkog posjeta i boravka.

Suvremeni turistički proizvod nije homogen, već se radi o integriranom proizvodu, kojeg u trenutku konzumiranja pružaju različiti pružatelji usluga, a turist ga doživljava kao jedinstveno iskustvo (Slivar Tiganj, 2012.). Rezultat navedenih trendova je da turisti žele biti dio „priče“, odnosno da se temeljem njegovih preferencija gradi turistički proizvod koji turist može prilagoditi prema sebi. Trend takvog razvoja turizma fokusiran je na pružanje turistima autentičnosti kroz pojam „turizam doživljaja“, odnosno skup međusobno povezanih i isprepletenih emotivnih sastavnica uvezanih u odgovarajući destinacijski turistički aranžman tako da daju potrošaču/turistu nesvakidašnje iskustvo (Jurin, 2016.). Sukladno navedenim stavkama, ciljanim marketinškim naporima moguće je identificirati sve elemente koji mogu diferencirati i brendirati regiju na turističkom tržištu. Određeni autori smatraju kako bi se Slavonija na turističkom tržištu trebala pozicionirati kao mirna i tiha oaza idealna za odmor, destinacija jedinstva različitosti nacija, kultura i običaja, skladnog života ljudi na malom prostoru, gostoljubivih domaćina koji gostima pružaju osjećaj kao kod kuće (Bolfek i sur., 2012.). Brendiranje turističke destinacije nije moguće bez sustavne provedbe niza marketinških aktivnosti. Integrirana marketinška komunikacija koordinira sve marketinške aktivnosti tako da kombiniraju komunikacijske elemente s ciljem postizanja

sinergijskih učinaka u kreiranju oglasa, analizi tržišta, korištenju medija i kontroli rezultata (Kesić, 2010.). Korištenjem različitih promocijskih aktivnosti i kanala distribucije informacija, korisnici mogu dobivati informacije u realnom vremenskom prikazu, mogu kreirati vlastiti sadržaj i disperzirati ga prema drugima, gdje sudionik od pasivnog postaje aktivni korisnik te ima kontrolu nad sadržajem koji koristi. Ključan element u tom slučaju predstavlja mapiranje turističkih atrakcija (atributa) i disperzija informacija o navedenim atrakcijama putem različitih kanala informiranja koje imaju značajnu ulogu u turističkoj promociji. Sukladno navedenom, možemo zaključiti kako je potrebno uvažiti što domicilno stanovništvo smatra da može poslužiti kao atribut tržišnog pozicioniranja u Slavoniji te koje kanale distribucije informacija smatraju najučinkovitijima. Kako bi spoznali u kojoj mjeri domicilno stanovništvo doživljava turističku promociju Slavonije provedeno je istraživanje s ciljem dobivanja informacija koje komunikacijske kanale navedeni uzorak smatra učinkovitim za dobivanje turističkih informacija (na području destinacije Slavonije) te koja obilježja u domeni turizma ispitanici smatraju da se mogu tržišno prezentirati u obliku konkurentne turističke ponude.

### **Materijal i metode**

Istraživanje je provedeno na uzorku od 170 ispitanika studenata, pripadnika „Z generacije“. Anketiranje se provodilo u razdoblju od siječnja do veljače 2021. godine u Slavoniji. Za potrebe istraživanja odabran je prigodni uzorak, anketirani su studenti Ekonomskog fakulteta u Osijeku koji su sudjelovali u projektnim zadacima vezanim za brendiranje turističke destinacije i pri tome stekli određena znanja o marketingu u turizmu. Upitnik u online formatu objavljen je na zatvorenom online sustavu za učenje Merlin. Upitnik se sastojao od 10 pitanja od kojih su četiri pitanja konstruirana kroz Likertovu mjernu ljestvicu od pet stupnjeva (1 je predstavljao minimum, 5 je predstavljao maksimum i po potrebi 9 da ispitanik ne može dati odgovor). Upitnik je tematski podijeljen na dva dijela. Prvi dio upitnika obuhvatio je pitanja u kojoj mjeri ispitanici konzumiraju sadržaj vezan za turističke proizvode i usluge. Drugi dio upitnika fokusirao se na stavove ispitanika o učinkovitosti promocijskih kanala. Posljednji dio obuhvatio je psiho-demografska pitanja. Distribucija ispitanika prema spolu je 36,5 % ispitanika muškog spola i 63,5 % ispitanika pripadnica ženskog spola. Iako je upitniku pristupilo 188 ispitanika, u radu su obrađeni odgovori 170 ispitanika pripadnika „Z generacije“ koji imaju mjesto prebivališta u Slavonskoj regiji (Vukovarsko-srijemska, Osječko-baranjska, Požeško-slavonska i Brodsko-posavska županija). Autori su se fokusirali na pripadnike „Z generacije“ budući da navedena generacijska grupa ulazi u svoje ključno potrošačko razdoblje, u najvećoj mjeri konzumiraju sadržaj online te prihvaćaju tehnologiju kao blagodat. U tehnološkom smislu navedena generacija je odrasla s tehnologijom i ne poznaje za drukčiji svijet od informatičkog, te su međusobno povezani od prijašnjih generacija (Kelić, 2021.). Iako postoje različiti rangovi kojima se definira raspon „Z generacije, za potrebe rada korištena je klasifikacija godine rođenja između 1995. i 2000. godine (Mass, 2000.).

### **Rezultati i rasprava**

Kako se istraživanje fokusiralo na pripadnike „Z generacije“, za pretpostaviti je kako najveći dio ispitanika konzumira sadržaj online. Živeći u virtualnoj stvarnosti, komunikaciju održavaju na identičan način - online putem različitih tehnika i alata online komunikacije (Fistrić, 2019.). „Generacija Z“ je naviknuta imati informaciju na dlanu, dostupnu u bilo kojem trenutku i na bilo kojem mjestu olakšavajući si pritom put do željenih podataka (Parks, 2013.). Pretraživanjem online sadržaja stvorili su se novi načini dobivanja informacija u kojemu se pretraživanjem sadržaja iz različitih izvora pronalaze informacije i povezuje u cjeline. Ako promatramo navedeno pretraživanje informacija na primjeru

turizma, proces organizacije putovanja sastoji se od nekoliko faza, prva od njih je istraživanje (sanjarenje) o putovanju koje se najčešće događaju u obliku online istraživanja pretragom različitih portala, društvenih mreža, blogova i sličnih interaktivnih platformi kada se traži inspiracija i istražuju destinacije. Također, postoje još tri faze, odnosno tzv. mikro-trenuci (Google, Think with Google, 2016.):

- planiranje - kada su turisti odabrali destinaciju, traže datume, letove, gdje će odsjesti, rent- a-car, što će raditi
- booking - rezervacija karata, smještaj, aktivnosti što će raditi na destinaciji
- iskustvo - trenuci s putovanja koje dijele s drugima.

Za potrebe rada fokus je stavljan na prvoj fazi (mikro-trenutku) kada je nužno predvidjeti potrebe turista i njihov kontekst pri dobivanju informacija o turističkoj ponudi te su ponuđene najučestalije komunikacijske tehnike i kanali. Pretraživanjem sadržaja na različitim platformama turisti dobivaju polazišne točke za traženje i dijeljenje informacija koristeći pri tome različite online kanale. Cilj istraživanja bio je izmjeriti u kojoj mjeri ispitanici smatraju ponuđene kanale učinkovitima. Navedeni kanali identificirani su kao najučestalije tehnike komunikacije u domeni turističke promocije. Rezultati istraživanja ukazuju kako najveći broj ispitanika smatra recenzije korisnika kao najučinkovitiji komunikacijski kanal za dobivanje informacija o turističkoj ponudi Slavonije (Tablica 1).

Tablica 1. Učinkovitost online komunikacijskih kanala pri dobivanju informacija o turističkoj ponudi Slavonije

N=170	1 - uopće nije uspješno	2 - manje je uspješno	3 - niti je uspješno, niti nije uspješno	4 - u većoj mjeri je uspješno	5 - izrazito je uspješno
Sponzorirani članci	2,7 %	19,1 %	33,5 %	39,4 %	5,3 %
Recenzije korisnika	1,1 %	11,2 %	22,9 %	45,7 %	19,1 %
Influenceri	4,3 %	14,4 %	34,0 %	33,0 %	14,4 %
Unapređenje prodaje (Crno Jaje, Mega bon, Ponuda dana i sl.)	0,5 %	10,6 %	30,9 %	40,4 %	17,6 %

Recenzije mogu poslužiti turistima kao ishodišna točka za informiranje, ali i poslovnim subjektima budući da mogu steći uvid u zadovoljstvo i nezadovoljstvo turista te prikupljene informacije mogu iskoristi kako bi unaprijedili i poboljšali proizvode i usluge. Također, ispitanici su ocijenili i unapređenje prodaje kroz grupne popuste kao učinkovitu tehniku komunikacije koja može dovesti do promocije turističkih proizvoda Slavonije. Kroz ovakav način komunikacije i promocije poslovni subjekti mogu stvoriti limitirane turističke ponude koje će turisti htjeti kupiti relativno brzo jer je jedinstvena prilika za povoljniju kupovinu. Važno je istaknuti kako turističke destinacije u većini slučajeva slijede jedne druge u komunikaciji što je posljedično dovelo do činjenice da su turisti koji dolaze u destinaciju unaprijed educirani i znaju što žele posjetiti i doživjeti na destinaciji. Iz navedenih razloga nužno je stvoriti preduvjete za učinkovitu promociju turističkih sadržaja, odnosno turističkih atributa koji mogu omogućiti pozicioniranje na turističkom tržištu. Atributi koji omogućuju i posljedično utječu na strategiju brendiranja je ono što turistička destinacija može ponuditi, odnosno što će ju diferencirati u odnosu na konkurente. Učinkovita turistička promocija omogućuje posjetiteljima da tijekom cijelog ciklusa putovanja imaju jasnu i cjelovitu sliku destinacije koja ispunjava njihova očekivanja koja su prethodno istražili. To podrazumijeva konzistentno komuniciranje i promociju atributa s ciljem izgradnje brenda. Stoga je nastavak istraživanja obuhvatio pitanja o atributima koji mogu poslužiti za brendiranje turističke ponude Slavonije gdje se željelo doznati koji atributi i u kojoj mjeri su prepoznatljivi u

turističkoj ponudi Slavonije od strane domicilnog stanovništva, pripadnika „Z generacije“, koji mogu poslužiti kao ishodište za brendiranje destinacije (Tablica 2). Odnosno istraživanjem se željelo spoznati po čemu je Slavonija poznata i što može koristiti u promociji. Ispitanicima su u anketi ponuđena ključna obilježja (atributi) koji su detektirani iz sekundarnih izvora koji se spominju u znanstvenim radovima i marketinškim strategijama na temu brendiranja Slavonije (Bolfek i sur., 2012., Strateški marketinški plan turizma Slavonije s planom brendiranja za razdoblje 2019. – 2025., Marketinški plan općine Bilje, 2019.; Studija brendiranja grada Vinkovaca kao poželjne turističke destinacije, 2017.). Najveći broj ispitanika smatra kako je Slavonija prepoznatljiva po kulturnim događanjima (manifestacijama), tradicionalnim jelima i enogastronomiji te stilu života.

Tablica 2. Prepoznatljivost atributa koji mogu poslužiti za brendiranje turističke ponude Slavonije

N=170	1 - uopće mi nije prepoznatljivo	2 - u manjoj mjeri mi je prepoznatljivo	3 - niti mi je prepoznatljivo, niti mi nije prepoznatljivo	4 - u većoj mjeri mi je prepoznatljivo	5 - izrazito je prepoznatljivo
Arhitektura	3,5 %	18,8 %	28,2 %	40,0 %	9,4 %
Kulturna događanja/ Manifestacije	1,2 %	5,9 %	12,4 %	58,8 %	21,8 %
Tradicionalna jela i enogastronomija	0,6 %	0,6 %	10,6 %	31,2 %	57,1 %
Stil života	0,6 %	4,7 %	18,2 %	49,4 %	27,1 %
Povijesno i kulturno nasljeđe	1,2 %	4,1 %	32,4 %	44,1 %	18,2 %

Sukladno rezultatima istraživanja upravo bi najbolje ocijenjeni atributi od strane ispitanika pripadnika mogli poslužiti kao ishodišne točke brendiranja destinacije prema određenim generacijama koje se žele privući u destinaciju, u ovom slučaju promatrane „Z generacije“. U promatranom slučaju turistički poslovni subjekti bi u komunikaciji prema pripadnicima „Z generacije“ trebali promovirati turistička obilježja Slavonije - manifestacije, enogastronomiju i stil života koristeći pri tome komunikacijske kanale u obliku recenzija te različite tehnike unapređenja prodaje. Možemo zaključiti ako se u promociji destinacije naglašavaju ključna obilježja (atributi) te se koriste učinkoviti komunikacijski kanali, gradi se cjelovita promocija prema ciljanoj skupini.

## Zaključak

Cilj rada bio je spoznati koje komunikacijske kanale studenti, pripadnici „Z generacije“ na području regije Slavonija smatraju najučinkovitijim za distribuciju informacija o turističkim proizvodima i promocijama. Rezultati ukazuju kako promatrana skupina ispitanika u najvećoj smatra recenzije i unapređenje prodaje najučinkovitijim online kanalima za dobivanje informacija o turističkoj ponudi Slavonije. Iako aktivnosti online marketinga u komunikacijskom smislu nude iznimno velik izbor kanala, u radu su se analizirali kanali koji se najučestalije koriste u komunikaciji prema ciljanoj skupini ispitanika. Drugi dio istraživanja obuhvatio je analizu koja obilježja mogu poslužiti za brendiranje turističke ponude Slavonije. Ispitanici smatraju kako se Slavonija može brendirati po kulturnim događanjima (manifestacijama), tradicionalnim jelima i enogastronomiji te stilu života. Ograničenja u radu predstavlja uzorak ispitanika koji je fragmentiran na jednu generaciju koja u ovom trenutku tek ulazi u svoje ključno potrošačko razdoblje. Preporuke za buduća istraživanja su provesti istraživanja na uzorku navedene generacije na ispitanicima koji nisu

iz Slavonije te izmjeriti gapove o tome kako doživljavaju Slavoniju u odnosu na domicilno stanovništvo. Kako bi korisnici postali svjesni raznolikosti koju pruža turistička destinacija potrebno je prema „Z generaciji“ koristiti strategiju unaprjeđenja prodaje i dijeljenja kvalitetnog sadržaja u obliku recenzija kako bi korisnici postali svjesni obilježja koju pruža turistička destinacija Slavonija. Nužno je pri tome pratiti prepoznatljive simbole, obilježja, slogane i boje koje su u skladu sa strateškim odrednicama destinacije.

## Literatura

- Bolfek B., Jakičić D., Lončarić B. (2012). Polazišta za brendiranje Slavonije kao turističke destinacije. *Ekonomski vjesnik: Review of Contemporary Entrepreneurship, Business, and Economic Issues*. 25 (2): 363-374.
- Buhalis D., Licata M. (2002). The future eTourism intermediaries. *Tourism Management*. 23 (3): 207-220.
- Fistrić M. (2019). Utjecaj digitalizacije na generacijski jaz – od bejbibumersa do generacije Z. *Communication Management Review*. 4 (01): 120-139.
- Glavni plan i strategija razvoja turizma Republike Hrvatske za razdoblje 2014. - 2020. Raspoloživo: <https://htz.hr/sites/default/files/2016-11/SMPHT-2014-2020-Sazetak.pdf>
- Google (2016). How Micro-Moments Are Reshaping the Travel Customer Journey, Raspoloživo: <https://think.storage.googleapis.com/docs/micro-moments-reshaping-travel-customer-journey-b.pdf>
- Hrturizam (2019). Podaci sustava eVisitor u 2019. godini. Raspoloživo: <https://hrturizam.hr/resume-2019-godine-ostvareno-21-milijuna-dolazaka-i-1086-milijuna-nocenja/>
- Institut za turizam (2019). Strateški marketinški plan turizma Slavonije s planom brendiranja za razdoblje 2019. - 2025. Raspoloživo: <https://hrturizam.hr/u-kojem-smjeru-ce-se-razvijati-turizam-u-slavoniji-saznajte-u-strateskom-marketinskom-planu-turizma-slavonije/>
- Institut za turizam (2019). Studija brendiranja grada Vinkovaca kao poželjne turističke destinacije. Raspoloživo: [http://www.tz-vinkovci.hr/files-tzv/file/2018/STUDIJA\\_Brendiranje-grada-Vinkovaca-kao-pozeljne-turisticke-destinacije\\_4\\_12\\_2017.pdf](http://www.tz-vinkovci.hr/files-tzv/file/2018/STUDIJA_Brendiranje-grada-Vinkovaca-kao-pozeljne-turisticke-destinacije_4_12_2017.pdf)
- Jurin E. (2016). Priručnik o doživljajima. Raspoloživo: <http://www.htz.hr/sites/default/files/2017-01/Prirucnik-o-doživljajima.pdf>
- Kelić I. (2021). Stavovi korisnika prema virtualnim glasovnim asistentima. *CroDiM: International Journal of Marketing Science*. 4 (1): 35-44.
- Kesić T. (2003). Integrirana marketinška komunikacija. Zagreb: Opinio.
- Kos D. (2013). Novi turistički trendovi i suvremeni turizam, Poslovni turizam, UHPA: 2013. Raspoloživo: <http://www.poslovniturizam.com/brojke-trendovi/uha-novi-turisticki-trendovi-i-suvremeni-turizam/1176>
- Maas J. (2000). Generations at work: managing the clash of veterans, boomers, Xers, and nexters in your workplace. *MIT Sloan Management Review*. 41(2): 98.
- Parks P.J. (2013). The digital divide. ReferencePoint Press.
- Richards G. (2002). Tourism attraction systems: Exploring cultural behavior. *Annals of tourism research*. 29 (4): 1048-1064.
- Slivar T.I. (2012). Future trends influencing demand for tourists (Ed), Strategije komuniciranja turističkih destinacija s tržištem putem interneta, doktorska disertacija, Odjel za ekonomiju i turizam Pula, Pula.

## **Students' opinion on the effectiveness of communication channels and attributes for branding in Slavonia**

### **Abstract**

Due to its complexity, we can attribute tourism as one of the fastest-growing sectors in the current time. Despite the fact that Slavonia's tourist offer is continually growing and continental tourism has established itself on the tourist map, the question of what the domicile population thinks the most recognized aspects of Slavonia as a tourist destination and which advertising methods they believe are most efficient for informing about tourist facilities in Slavonia arises. Although tourist promotion is not targeted at the domicile population, it is necessary to include the local population in the promotion to become carriers of content, i.e., the so-called evangelists. With this coverage, it is possible to achieve the viral effect of promoting tourist destinations on the continent through the voluntary sharing of destination information by the domicile population, which can lead to the unpaid promotion of the destination. The research aims to find out which communication channels respondents consider the most effective for obtaining information about tourist facilities in Slavonia and which attributes can be used to brand the tourist offer of Slavonia.

**Key words:** tourism, internet marketing, continental tourism, promotion

## Poznatost i zadovoljstvo potrošača vinima hrvatskih autohtonih sorti

Damir Kovačić<sup>1</sup>, Antonija Šantalab<sup>2</sup>, Željka Mesić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za marketing u poljoprivredi, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska (dkovacic@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za marketing u poljoprivredi, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska - studentica MS studija Vinarstvo i vinogradarstvo*

### Sažetak

U posljednjih deset godina proizvodnja i kvaliteta vina hrvatskih autohtonih sorti značajno su porasli. Ciljevi ovog rada bili su utvrditi stupanj poznatosti vina hrvatskih autohtonih sorti, stupanj njihovog isprobavanja te zadovoljstvo potrošača tim vinima. U tu svrhu provedeno je *on line* istraživanje na uzorku od 170 ispitanika. Poznatost vina mjerena je pomoću tri pokazatelja: test podsjećanja, test prepoznavanja te prvo navedeni proizvod. Isprobavanje vina mjerilo se direktnim pitanjem, a zadovoljstvo potrošača je mjereno pomoću potvrdno-nepotvrdne paradigme. Za obradu podataka korištena je jednovarijatna i regresijska analiza. Test prepoznavanja, suprotno očekivanome, pokazao je visoku razinu poznatosti vina od hrvatskih autohtonih sorti, za sve ispitane sorte poznatost je veća od 79 %. Visoka poznatost ukazuje na uspješnost dosadašnjih napora raznih, uglavnom lokalnih, udruga i organizacija u promociji tih hrvatskih vina. Međutim, testiranje manje poznatih vina vjerojatno bi dalo drugačije rezultate. Najpoznatije vrste vina, Plavac mali i Istarska malvazija imaju stupanj kušanja od preko 90 %, dok manje poznata vina imaju stupanj kušanja ispod 50 %. Više od 90 % ispitanika zadovoljno je kušanim vinima. Regresijska analiza pokazuje da na ukupno zadovoljstvo ispitanika vinima statistički značajno utječe samo zadovoljstvo okusom i mirisom, a jakost veze je vrlo slaba ( $R^2 = 0,11$ ). Rezultati istraživanja daju informacijsku podlogu za planiranje daljnjih aktivnosti za zajedničku promociju vina hrvatskih autohtonih sorti.

**Ključne riječi:** vina hrvatskih autohtonih sorti, poznatost, kušanje, zadovoljstvo

### Uvod

Prostor Hrvatske obiluje genetskom varijabilnošću te se na njemu razvio veliki broj vinskih sorti. Unazad dvadesetak godina proveden je veći broj genetskih istraživanja radi dokazivanja podrijetla sorti. Vinari su komercijalizirali desetine novih vina autohtonih vinskih sorti. Povećana je proizvodnja i kvaliteta tih vina. Međutim, većina tih vina još uvijek je poznata samo lokalno. Posljedično, njihov tržišni potencijal nije niti približno iskorišten. Kako bi novi proizvod odnosno marka proizvoda, a u našem slučaju su to vina autohtonih sorti, iskoristila tržišni potencijal mora postići visoku poznatost, visoku stopu isprobavanja te zadovoljiti potrošače (Kotler i sur., 2014.).

Poznatost marke je jedan o najvažnijih čimbenika vrijednosti marke i preduvjet za donošenje kupovne odluke, odnosno realizaciju transakcije. Poznatost se može definirati kao vjerojatnost da će se potrošač prisjetiti neke marke kad razmatra alternativne marke u određenoj kategoriji proizvoda (Keller, 2003.). Bez poznatosti marka uopće nije opcija izbora pa ne može biti niti predmet transakcije. Istraživanje Moisescu (2009.) potvrdilo je jaku korelaciju između poznatosti marke i ostvarivanja kupnje. Prema intenzitetu poznatosti nekog proizvoda odnosno marke moguće je razlikovati tri razine, tzv. prvospomenuti (*top of mind*) proizvod, poznatost bez podsjećanja i poznatost uz podsjećanje. Cilj svake tvrtke koja

upravlja markom proizvoda je postići najvišu razinu poznatosti, odnosno postati prvospomenuta marka. Što se potrošač brže i snažnije sjeti određene marke, veća je vjerojatnost da će je potražiti i kupiti (Dodds i sur., 1991., Grewal i sur., 1998.). Osim svjesnosti o postojanju proizvoda, poznatost smanjuje rizik pri donošenju kupovne odluke. Potrošačima poznatost marke daje sigurnost da će dobiti traženi proizvod i u situaciji kad nemaju vlastito iskustvo (Malik i sur., 2013.).

Poznatost marke je nužan, ali ne i dovoljan uvjet za kupnju proizvoda. Potrošač mora kušati proizvod i ako je zadovoljan velika je vjerojatnost da će i kupovati taj proizvod odnosno tu marku. Zadovoljstvo potrošača se može definirati kao potrošačev subjektivan sud o tome je li proizvod ispunio njegova očekivanja (Raspor Janković i Lanča, 2015.). Za mjerenje zadovoljstva najčešće se koristi potvrdno-nepotvrdna paradigma (*confirmation / disconfirmation paradigm*) (Stauss, 1999., Meixner, 1998., Homburg i Rudolph, 1998.).

Ciljevi ovog rada bili su utvrditi stupanj poznatosti vina hrvatskih autohtonih sorti, stupanj njihovog isprobavanja te zadovoljstvo potrošača tim vinima. Rezultati istraživanja ukazat će na uspješnost dosadašnjih aktivnosti na promociji vina hrvatskih autohtonih sorti te dati informacije potrebne za planiranje budućih marketinških aktivnosti.

### Materijal i metode

Za potrebe izrade rada provedeni su predistraživanje i glavno anketno istraživanje. Predistraživanje je provedeno u formi *on line* anketnog ispitivanja na uzorku od 50 ispitanika. Cilj predistraživanja bio je kreirati listu od po pet najpoznatijih crnih i bijelih vina autohtonih sorti. Glavno ispitivanje provedeno je također *on line* anketom na uzorku od 170 potrošača vina. Anketa je distribuirana putem Facebook stranica koje se tematski bave proizvodnjom i potrošnjom vina. Anketni upitnik se sastojao od 21 pitanja od kojih je 17 ispitivalo poznatost i stopu kušanja predmetnih vina te zadovoljstvo potrošača vinima, a zadnja četiri su bila socio-ekonomska pitanja. Ispitivanje poznatosti provedeno je pomoću tri testa: prvonavedeni proizvod (*engl. Top of the mind*), test podsjećanja (*engl. Recall test*) i test prepoznavanja (*engl. Recognition test*). Isprobavanje vina mjerilo se direktnim pitanjem. Zadovoljstvo potrošača mjereno je pomoću potvrdno-nepotvrdne paradigme (Stauss, 1999.). Za obradu podataka korištene su metode jednovarijatne analize. Povezanost ukupnog i parcijalnih zadovoljstava izračunata je pomoću regresijske analize (Meixner, 1998., Radman i sur., 2001.). U prvom koraku koristeći opciju *casewise*, pronađeni su ispitanici čije zadovoljstvo značajno odstupa od prosjeka svih ispitanika te su isključeni iz daljnje analize (više od 3 standardne devijacije). U analizi je korištena metoda *stepwise*. Podaci su obrađeni u SPSS programu.

### Rezultati i rasprava

Predistraživanjem je utvrđeno da su najpoznatija bijela vina autohtonih sorti Malvazija istarska (n = 22), Pošip (n = 13), Žlahtina (n = 12), Škrlet (n = 5) i Kraljevina (n = 3), a od crnih Plavac mali (n = 28), Babić (n = 7), Teran (n = 5), Crljenak kaštelanski (n = 3) i Plavina (n = 3). Najčešće navedena sorta je bila Graševina (n = 27), no ona nije autohtona već udomaćena sorta.

U istraživanju je sudjelovalo jednak broj ženskih i muških ispitanika. Prema starosti najviše su zastupljene skupine između 21 i 30 godina (51 %) te između 31 i 40 godina (32 %). Više od ¾ ispitanika ima završenu višu ili visoku školu. Prema dohotku najviše je ispitanika u skupini s dohotkom većim od 10.000 kuna mjesečno (47 %). U uzorku je razmjerno više



mlađih i visoko obrazovanih ispitanika nego u populaciji. Takav problem s reprezentativnošću uzorka često se pojavljuje kod *on line* anketnih istraživanja.

Kao što je već navedeno poznatost se mjerila pomoću tri testa: prvonavedeni proizvod, poznatost bez podsjećanja i poznatost uz podsjećanje. Test prvonavedenog proizvoda proveden je zasebno za bijela i crna vina. Potrošači su suočeni s uobičajenom situacijom konzumacije vina i zatraženo je da imenuju tri proizvoda koja im prva padaju na pamet. Od bijelih sorti najčešće su prvonavedena sljedeća vina: graševina (42,9 %), malvazija istarska (19 %), pošip (11 %) i chardonnay (6 %). Od crnih vina najčešće su prvospomenuta: plavac mali (29 %), cabernet sauvignon (17 %), merlot (17 %) i teran (7 %).

Test podsjećanja navodi proporciju potrošača koji se bez podsjećanja mogu prisjetiti određene marke odnosno u ovom istraživanju vinske etikete. Od bijelih vina najpoznatija su graševina (42,9 %), malvazija (42,9 %), pošip (31,8 %), i žlahtina (10 %), škrljet (7,6 %), maraština (7,1 %) i grk (6,5 %), a od crnih plavac mali (49,4 %) merlot (43,5 %), cabernet sauvignon (41,8 %), teran (19,4 %), pinot crni (13,5 %), syrah (12,9 %), frankovka (12,4 %), crljenak kaštelanski (7,6 %) te vranac (6,5 %). Navedena je proporcija odgovora samo za vina koja su spomenuta najmanje 10 puta od strane ispitanika.

Kod testa podsjećanja ispitanicima je navedeno pet autohtonih sorti bijelog i pet crnog vina te su oni odgovarali koja od tih vina poznaju. Najveću poznatost ima malvazija istarska (99,4 %), zatim žlahtina (95,3 %), pošip (92,9 %) i škrljet (81,1 %). Najnižu razinu poznatosti ima kraljevina, iako se radi o relativno visokoj razini poznatosti od 70,6 %. Od crnih vina najveću poznatost imaju plavac mali (99,4 %), teran (94,7 %), babiće (92,4 %), plavina (74,7 %) i crljenak kaštelanski (70 %).

Od bijelih vina najviše potrošača je kušalo malvaziju istarsku (94,7 %), zatim pošip (80,6 %), žlahtinu (84,1 %), škrljet (64,1 %) te kraljevinu (48,2 %). Od crnih vina najviše ispitanika je kušalo plavac mali (96,5 %), babiće (78,8 %), teran (78,2 %), plavina (54,1 %) te crljenak kaštelanski (50 %).

Zadovoljstvo potrošača istraženo je na razini ukupnog i parcijalnog zadovoljstva. Parcijalno zadovoljstvo odnosi se na zadovoljstvo pojedinim obilježjima vina: okus i miris, estetika boce, odnos cijena/kvaliteta, dostupnost vina, savjeti i informacije. Za ocjenjivanje je korištena skala „zadovoljstva“ pri čemu je 1 značilo „jako nezadovoljan“, a 5 „jako zadovoljan“. Više od polovice ispitanika (56 %) je jako zadovoljno s kušanim vinima hrvatskih autohtonih sorti, 34 % je zadovoljno, 7,8 % ispitanika niti zadovoljno niti nezadovoljno, a 1,4 % nezadovoljno. Prosječna ocjena zadovoljstva je razmjerno visoka (srednja ocjena = 4,6). Promatrano prema obilježjima ispitanici su najviše zadovoljni okusom i mirisom vina (srednja ocjena = 4,1), zatim odnosom cijene i kvalitete, dostupnošću vina i estetikom boce, za sve tri obilježja prosječna ocjena 3,7 te najmanje uslugom odnosno savjetima i informacijama koje dobivaju od prodavača vina (srednja ocjena = 3,4).

Povezanost između ukupnog i parcijalnih zadovoljstava utvrđena je pomoću regresijske analize. Koeficijent determinacije je 0,110 odnosno prilagođeni koeficijent determinacije 0,104. Model je signifikantan na testiranoj razini, a test homogenosti varijance potvrdio je homogenost varijabli uključenih u model. Provedena analiza pokazuje da na ukupno zadovoljstvo ispitanika statistički značajan utjecaj ima samo zadovoljstvo okusom i mirisom. Jakost te veze je vrlo slaba. Model objašnjava tek 11 % ukupne varijance varijable ukupnog zadovoljstva.

## Zaključak

Test prvonavedenog proizvoda i test prepoznavanja pokazali su visoku razinu poznatosti vina hrvatskih autohtonih sorti. Pri tome je manja poznatost crnih vina. Visoka poznatost vina je postignuta vjerojatno iz dva razloga. Prvo, u istraživanje su bila uključena poznatije vinske sorte. Drugo, anketa je provedena preko Facebook stranica povezanih s vinom, pa su u istraživanju sudjelovale većinom osobe koje bolje poznaju vinsku scenu. Najpoznatije vrste vina, Plavac mali i Istarska malvazija imaju visok stupanj kušanja od preko 90 %, dok manje poznata vina Kraljevina i Crljenak kaštelanski imaju stupanj kušanja oko 50 %. Više od 90 % ispitanika zadovoljno je kušanim vinima. Regresijska analiza pokazuje da na ukupno zadovoljstvo ispitanika vinima statistički značajno utječe samo zadovoljstvo okusom i mirisom, a jakost veze je vrlo slaba ( $R^2 = 0,11$ ).

Visoka poznatost vina hrvatskih autohtonih sorti upućuje na uspješnost dosadašnjih aktivnosti u promociji tih vina, koju uglavnom provode udruge vinara i jedinice lokalne samouprave. U buduću bi trebalo više poticati kušanje manje poznatih autohtonih vinskih sorti te češće organizirati kušanje tih vina. Ovo istraživanje bilo bi dobro ponoviti *face to face* anketnim ispitivanjem, na manje poznatima vinima autohtonih sorti te na uzorku „prosječnih“ vinskih potrošača.

## Napomena

Podaci iznijeti u ovom radu predstavljaju rezultate istraživanja provedenog za potrebe izrade diplomskog rada studentice Antonije Šantalab na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu pod nazivom: Poznatost vina i zadovoljstvo potrošača vinima hrvatskih autohtonih sorti.

## Literatura

- Dodds W.B., Monroe K.B., Grewal D. (1991). Effects of price, brand, and store information on buyers' product evaluations. *Journal of marketing research*. 28 (3): 307-319.
- Grewal D., Krishnan R., Baker J., Borin N. (1998). The effect of store name, brand name and price discounts on consumers' evaluations and purchase intentions. *Journal of retailing*. 74 (3): 331-352.
- Homburg C., Rudolph B. (1998). Theoretische perspektiven zur Kundenzufriedenheit. U: Simon H., Homburg C., Kundenzufriedenheit: Konzepte – Methoden – Erfahrungen, 3., aktual. und erw. Auf., Wiesbaden, Gabler, 33-55.
- Keller L.K., (2003). *Strategic Brand Management* - Prentice Hall.
- Kotler P., Keller K.L., Martinović M., (2014). *Upravljanje marketingom* - 14 izdanje, Zagreb: Mate.
- Malik M.E., Ghafoor M.M., Hafiz K.I., Riaz U., Hassan N.U., Mustafa M., Shahbaz S. (2013). Importance of brand awareness and brand loyalty in assessing purchase intentions of consumer. *International Journal of business and social science*. 4(5): 167-171.
- Meixner O. (1998). *Konsumentenverhalten und Erlebniswirkungen von Umgebung*, Diss., Universität für Bodenkultur, Wien.
- Moiescu O.I. (2009). The impact of brand-consumer personality congruence on brand loyalty. *International Journal of Business Research*. 9(4): 175-179.
- Raspor Janković S., Lanča S. (2015). Mjerenje zadovoljstva i lojalnosti klijenta uslugama na kioscima. *Oeconomica Jadertina*. 5(2): 26-37.
- Radman M. (2001). Odrednice kupovnog ponašanja potrošača voća i povrća; Identifikacija tržišnih segmenata na tržištima na malo u Hrvatskoj pomoću faktorske i cluster analize. Magistarski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za marketing u poljoprivredi.
- Stauss B. (1999). Kundenzufriedenheit - Marketing ZFP, Heft 1, 1. Quartal, 5-4
- Šantalab A. (2020). Poznatost vina i zadovoljstvo potrošača vinima Hrvatskih autohtonih sorti. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za marketing u poljoprivredi.

## **Wine familiarity and consumer satisfaction with wines of Croatian autochthonous varieties**

### **Abstract**

In the last ten years, the production and quality of wines of Croatian autochthonous varieties have significantly increased. The aims of this paper were to determine the degree of familiarity with wines of Croatian autochthonous varieties, the degree of their tasting and consumer satisfaction with these wines. The online survey was conducted on a sample of 170 respondents. Wine familiarity (brand recognition) was measured using three indicators: a recall test, a recognition test and the first mentioned product (top of the mind). Wine tasting was measured by a direct question, and the confirmation/disconfirmation paradigm (C / D paradigm) was used to measure consumer's satisfaction. A single-variant and regression analyzes is used for data processing. A recognition test, contrary to the expected, showed a high level of wine familiarity from Croatian indigenous varieties, familiarity with all varieties was greater than 79 %. High familiarity indicates the success of previous efforts of various, mostly local, associations and organizations in the promotion of these wines. However, testing the lesser known wine would probably give different results. The most famous types of Croatian wine, Plavac mali and Istrian Malvasia have a degree of tasting over 90 %, while lesser-known wines below 50 %. Results showed that more than 90 % of respondents are satisfied with the tasted wines. Regression analysis shows that the overall satisfaction of respondents with wines is statistically significantly affected only by satisfaction with taste and aroma, and the strength of the connection is very weak ( $R^2 = 0.11$ ). The results of the research provide an information basis for planning further activities for the joint promotion of wines of Croatian autochthonous varieties.

**Key words:** wines from Croatian autochthonous varieties, familiarity, tasting, satisfaction

## Analiza razvoja poljoprivredne proizvodnje u Vukovarsko-srijemskoj županiji

David Kranjac<sup>1</sup>, Krunoslav Zmaić<sup>1</sup>, Tihana Sudarić<sup>1</sup>, Marko Krivić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (dkranjac@fazos.hr)

<sup>2</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska - student

### Sažetak

Rad prikazuje analizu razvoja poljoprivredne proizvodnje u Vukovarsko-srijemskoj županiji od 2015. - 2019. godine kroz analizu povijesnih podataka o agrarnoj strukturi, posjedovnoj strukturi, poljoprivrednom zemljištu prema načinu uporabe, pregledu žetvenih površina, prinosa i proizvodnje glavnih žitarica i uljarica, te pregleda broja gospodarstava koja se bave stočarstvom i broja živih životinja. Analiza poljoprivredne proizvodnje u Vukovarsko-srijemskoj županiji generalno ukazuje na povećanje obujma poljoprivredne proizvodnje koja se prvenstveno odnosi na povećanje obujma biljne proizvodnje, dok stočarski sektor bilježi negativne trendove.

**Ključne riječi:** analiza, poljoprivredna proizvodnja, Vukovarsko-srijemska županija

### Uvod

Vukovarsko-srijemska županija (VSŽ) je najistočnija županija u Republici Hrvatskoj. Nalazi se na prostoru istočne Slavonije i zapadnog Srijema ukupne površine 2.448 km<sup>2</sup>, što čini 2,8 % ukupne površine, odnosno 4,3 % kopnenog teritorija Hrvatske. Prema posljednjim podacima Državnog zavoda za statistiku, VSŽ u 2017. godini ostvaruje bruto domaći proizvod (BDP) u iznosu 8.322 mil. kn, odnosno 2,27 % ukupno ostvarenog BDP-a u RH (DZS, 2020.). Iste godine VSŽ ostvaruje bruto dodanu vrijednost (BDV) od 6.874 mil. kuna, a u ukupnoj strukturi BDV-a prema Nacionalnoj klasifikaciji djelatnosti (NKD), najveći udio zauzima javna uprava i obrana, obrazovanje, djelatnosti zdravstvene zaštite i socijalne skrbi (23,2 %), prerađivačka industrija, rudarstvo, te ostale industrije (17,8 %), trgovina na veliko i na malo (14,8 %), te na visokom četvrtom mjestu poljoprivreda, šumarstvo i ribarstvo s udjelom od 13,4 % (DZS, 2020.). Poljoprivredne površine prekrivaju otprilike 58 % ukupne površine županije od čega preko 90 % poljoprivrednih površina se odnosi na oranice (APPRRR, 2020.). Nadalje, prema posljednjem popisu stanovništva (DZS, 2011.), 49,1 % ukupnog broja stanovnika živjelo je u pet županijskih gradova, dok je preostalih 50,9 % stanovnika živjelo u 26 općina što također potvrđuje ruralni karakter županije. S obzirom na relativno visok udio poljoprivrede, šumarstva i ribarstva u ukupnoj strukturi BDV-a, količinu poljoprivrednoga zemljišta, te pretežito ruralno stanovništvo u županiji, cilj rada je analizirati razvoj poljoprivredne (biljne i stočarske) proizvodnje kroz prikaz trenda recentnih povijesnih podataka (2015. - 2019.) o agrarnoj strukturi, posjedovnoj strukturi, poljoprivrednim površinama, biljnoj i stočarskoj proizvodnji u VSŽ.

## Agrarna struktura, posjedovna struktura, poljoprivredne površine, biljna i animalna proizvodnja u Vukovarsko-srijemskoj županiji

U Republici Hrvatskoj prema podacima APRRR u 2019. godini u sustavu potpora bilo je registrirano 170.662 poljoprivredna gospodarstva, a VSŽ sudjeluje s 4,4 % u ukupnom broju poljoprivrednih subjekata u sustavu potpora. Posljednjih godina vidljiv je blagi trend povećanja (1,29 %) ukupnog broja gospodarskih subjekata na razini županije (Tablica 1). U navedenom razdoblju trgovačka društva bilježe najveći trend rasta (12,19 %), potom obrti (5,52 %), OPG-ovi (0,96 %), dok zadruge u djelatnosti poljoprivrede bilježe pad od (2,86 %).

Tablica 1. Agrarna struktura VSŽ prema broju gospodarskih subjekata u poljoprivredi (2016. - 2019.)

	2016	2017	2018	2019	Trend
OPG	7111	6870	6988	7057	0,96 %
Obrt	256	256	267	274	5,52 %
Trgovačka društva	116	121	124	135	12,19 %
Zadruga	37	35	33	34	-2,86 %
Ostali	13	13	12	13	2,63 %
Ukupno	7533	7295	7424	7513	1,29 %

Izvor: izrada autora prema podacima APPRRR-a (2020.)

Najveći udio u posjedovnoj strukturi poljoprivrednih gospodarstava prema veličini u (ha) čine gospodarstva veličine od 3 ha do 20 ha i to preko 43 % udjela (Tablica 2). Sljedeća po zastupljenosti su gospodarstva veličine do 3 ha (36,1 %), a potom gospodarstva veličine od 20 ha do 100 ha (17,5 %), dok gospodarstva veličine preko 100 ha čine nešto više od 2 %. Prikazano stanje ukazuje na relativno visok udio usitnjenih, malih i tehnološki neučinkovitih poljoprivrednih gospodarstava u županiji (Kranjac i sur., 2020.). Nadalje, podatci APPRRR-a ukazuju kako 536 poljoprivrednih gospodarstava u županiji ne posjeduju poljoprivredno zemljište. Analizirani podatci ukazuju na negativan trend daljnjeg povećanja gospodarstava manjih od 3 ha dok broj srednjih i velikih gospodarstava na razini županije stagnira.

Tablica 2. Posjedovna struktura poljoprivrednih gospodarstava po veličini (u ha) u VSŽ (2016. - 2019.)

	2016	2017	2018	2019	Trend
< 3 ha	2373	2446	2487	2521	3,52 %
> 3 ha i < 20 ha	3009	3017	3028	3047	0,96 %
> 20 ha i < 100 ha	1199	1218	1231	1226	0,82 %
> 100 ha i < 1500 ha	186	183	180	180	-1,64 %
> 1500 ha	3	3	3	3	0 %
Ukupno	6770	6867	6929	6977	1,77 %

Izvor: Izrada autora prema podacima APPRRR-a (2020.)

Preko 50 % ukupnih površina županije čine poljoprivredne površine (148.886 ha) od čega prema podacima APPRRR-a iz 2019. godine 129.989,38 ha poljoprivrednih površina je u sustavu potpora. Prema načinu uporabe poljoprivrednog zemljišta daleko najveći udio otpada na oranice (96,1 %), dok drugi oblici uporabe poljoprivrednog zemljišta čine vrlo mali udio iz čega se da zaključiti kako su poljoprivredni proizvođači u VSŽ pretežito orijentirani na proizvodnju kapitalno intenzivnih ratarskih usjeva (Tablica 3).

Tablica 3. Poljoprivredno zemljište prema načinu uporabe (ha) u VSŽ (2016. - 2019.)

	2016	2017	2018	2019	Trend
Oranica	125.128,44	125.397,97	125.772,34	124.977,51	-0,36 %
Livada	307,86	303,67	267	265,7	-9,27 %
Pašnjak	775,79	776,88	789,53	767,77	-1,66 %
Voćnjak	1811,07	2037,39	2131,36	2217,76	11,26 %
Miješani trajni nasadi	6,85	7,38	7,80	8,70	18,47 %
Rasadnik	22,18	19,37	15,10	16,36	-13,36 %
Vinograd	1686,98	1533,72	1625,8	1631,95	1,02 %
Iskrčeni vinograd	15,38	17,69	25,22	20,44	5,20 %
Staklenik na oranici	16,96	17,62	17,51	31,61	82,05 %
Kulture kratkih ophodnji	11,56	9,08	1,15	1,15	-84,17 %
Ostalo zemljište	41,10	33,81	50,2	50,43	20,93 %
<b>Ukupno (ha)</b>	<b>129.824,17</b>	<b>130.154,58</b>	<b>130.703,04</b>	<b>129.989,38</b>	<b>-0,18 %</b>

Izvor: Izrada autora prema podatcima APPRRR-a (2020.)

Više od polovine ukupnih oraničnih površina u VSŽ zasijano je žitaricama (70.010,9 ha), a u strukturi glavnih žitarica najzastupljenija žitarica je kukuruz koji je zasijan na 25 % ukupnih oranica, potom slijedi pšenica s udjelom od 23,3 % (Tablica 4). Prikazane žitarice u analiziranom razdoblju imaju pozitivan trend rasta prinosa i volumena proizvodnje osim zobi koja zbog smanjenja zasijanih površina bilježi pad volumena proizvodnje u promatranom razdoblju. Ovakve slične pozitivne trendove rasta produktivnosti i obujma biljne proizvodnje nalazimo i na državnoj razini gdje se pozitivni pokazatelji u sklopu ključnih tržišta žitarica i uljarica odvijaju zbog pozitivnih utjecaja pristupanja Hrvatske u EU, poglavito zbog uvođenja mehanizama neposrednih potpora, prilagodbi poslovanja na jedinstvenom tržištu, te uvođenja novih tehnologija (Zrakić Sušac i sur., 2020.).

Tablica 4. Pregled žetvenih površina, prinosa i proizvodnje glavnih žitarica u VSŽ (2015. - 2019.)

	2015	2016	2017	2018	2019	Trend	
Kukuruz	Žetvene površine (ha)	27.829,87	26.246,3	28.045,09	27.833,12	30.897,9	12,40 %
	Prinos (t/ha)	6,5	8,5	6,3	9,1	9	18,42 %
	Proizvodnja (t)	180.894,2	223.093,6	176.684,1	253.281,4	278.081,1	33,38 %
Pšenica (jara + ozima)	Žetvene površine (ha)	31.324,54	33.087,28	24.592,98	28.714,35	29.121,4	-1,05 %
	Prinos (t/ha)	5,4	5,7	5,9	5,4	5,9	5,36 %
	Proizvodnja (t)	169.152,5	188.597,5	145.098,6	155.057,5	171.816,3	4,46 %
Ječam (jara + ozima)	Žetvene površine (ha)	6.579,8	8.219,77	9.028,95	8.558,5	9.417,77	16,32 %
	Prinos (t/ha)	4,4	4,7	4,8	4,5	4,7	2,17 %
	Proizvodnja (t)	28.951,12	38.632,92	43.338,96	38.513,25	44.263,52	18,48 %
Zob (jara + ozima)	Žetvene površine (ha)	820,44	801,46	730,63	520,19	573,91	-20,09 %
	Prinos (t/ha)	3,1	3	3	2,8	3	0,84 %
	Proizvodnja (t)	2.543,36	2.404,38	2.191,89	1.456,53	1.721,73	-19,88 %

Izvor: Izrada autora prema podatcima APPRRR-a (2020.)

Napomena: za županijske prinose vrijednosti su preuzete s DZS za prosječne godišnje državne razine prinosa.

Površine pod uljaricama obuhvaćaju 43.112,6 ha poljoprivrednih površina županije. Najzastupljenija uljarica je soja koja čini 59,9 % ukupno zasijanih površina uljaricama, potom slijedi suncokret s udjelom od 26,9 % (Tablica 5). Također vidljiv je sličan trend rasta prinosa i obujma proizvodnje glavnih uljarica u VSŽ kao i kod žitarica. No, na pozitivne

trendove kod promatranih uljarica utječu više proizvođačke cijene koje su bliže razinama EU prosječnih proizvođačkih cijena (Kranjac i sur., 2020.).

Tablica 5. Pregled žetvenih površina, prinosa i proizvodnje glavnih uljarica u VSŽ (2015. - 2019.)

		2015	2016	2017	2018	2019	Trend
Soja	Žetvene površine (ha)	29.377,95	23.331,9	26.210,81	23.567,39	24.539,94	-4,22 %
	Prinos (t/ha)	2,2	3,1	2,4	3,2	3,1	13,76 %
	Proizvodnja (t)	64.631,49	72.328,89	62.905,94	75.415,64	76.073,81	10,54 %
Uljana repica	Žetvene površine (ha)	2.895,8	5.376,62	7.900,1	9.814,14	6.942,81	6,87 %
	Prinos (t/ha)	2,6	3,1	2,8	2,8	2,9	2,65 %
	Proizvodnja (t)	7.529,08	16.667,52	22.120,28	27.479,59	20.134,14	9,13 %
Sunco kret	Žetvene površine (ha)	9.684,39	12.127,68	12.420,31	13.374,67	11.629,9	-2,28 %
	Prinos (t/ha)	2,7	2,7	3,1	3	3	4,35 %
	Proizvodnja (t)	26.147,85	32.744,73	38.502,96	40.124,01	34.889,7	1,48 %

Izvor: Izrada autora prema podatcima APPRRR-a (2020.)

Napomena: za županijske prinose vrijednosti su preuzete s DZS za prosječne godišnje državne razine prinosa.

Prethodno prikazani pozitivni pokazatelji u sklopu biljne proizvodnje nisu prisutni u stočarskom sektoru u Vukovarsko-srijemskoj županiji. Tome svjedoče prikazani negativni trendovi koji se očituju u smanjenju broja gospodarstava koje se bave stočarskom proizvodnjom i padu broja uzgajanih životinja. Ističe se izrazito negativan trend pada broja gospodarstava koje se bave govedarstvom (-33,35 %), te ujedno i pad broja goveda (-9,35 %) (Tablica 6). Slični negativni trendovi prikazani su i na preostalim sektorima stočarske proizvodnje osim kod sektora ovčarstva i kozarstva koje bilježi rast broja ovaca i koza na razini županije. Analizirane brojke na razini županije potvrđuju sličan trend na nacionalnoj razini gdje poglavito sektor govedarstva i mljekarstva, koji se nalazi u dubokoj krizi dugi niz godina, ima slične izrazito negativne trendove i pokazatelje (Kranjac i sur., 2020.; Grgić i sur., 2016.; Grgić i Zrakić 2015.).

Tablica 6. Pregled broja gospodarstava koji uzgajaju stoku i broja životinja u VSŽ (2015. - 2019.)

		2015	2016	2017	2018	2019	Trend
Goveda	Broj gospodarstava	1.401	1.323	1.291	864	813	-33,35 %
	Broj životinja	31.465	30.715	30.637	27.384	27.240	-9,35 %
Svinje	Broj gospodarstava	8.453	8.319	8.268	4.280	6.289	-14,20 %
	Broj životinja	211.708	218.738	211.432	181.310	184.464	-10,37 %
Ovce	Broj gospodarstava	521	512	530	519	526	1,06 %
	Broj životinja	17.021	17.524	18.180	18.614	19.825	11,16 %
Koze	Broj gospodarstava	266	255	254	236	210	-16,91 %
	Broj životinja	1.317	1.208	1.232	1.249	1.302	4,04 %
Konji	Broj gospodarstava	353	390	393	382	387	1,98 %
	Broj životinja	1066	991	1001	996	1.046	3,21 %

Izvor: Izrada autora prema podatcima HPA Godišnjih izvješća (2020.)

## Zaključak

Pregled i analiza poljoprivredne proizvodnje u Vukovarsko-srijemskoj županiji ukazuje kako u strukturi poljoprivredne proizvodnje prevladava ratarska proizvodnja (proizvodnja glavnih žitarica i uljarica). Preko 90 % agrarne strukture županije čine OPG-ovi koji većinom posjeduju poljoprivrednih površine veličine od 3 do 20 ha. U sklopu tržišta biljne proizvodnje županije analiza je pokazala pozitivne trendove koji se odnose na rastuće trendove produktivnosti i volumena proizvodnje promatranih ključnih ratarskih kultura, dok su negativni trendovi vidljivi kod tržišta stočarske proizvodnje koji se odnose na trend smanjenja broja gospodarstava koja se bave stočarskom proizvodnjom i smanjenje broja živih životinja. Provedena analiza potvrđuje gotovo istovjetne trendove na nacionalnoj razini gdje tržišta biljne proizvodnje bilježe pozitivne rezultate, dok tržišta stočarske proizvodnje stagniraju ili imaju negativne pokazatelje.

## Literatura

- Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju (2020). Upisnici i registri. Raspoloživo: <https://www.apprrr.hr/upisnik-poljoprivrednika/>
- Državni zavod za statistiku (2011). Popis stanovništva, kućanstava i stanova 2011. Raspoloživo: <https://www.dzs.hr/hrv/censuses/census2011/results/censustabshtm.htm>
- Državni zavod za statistiku (2020). Biljna proizvodnja. Raspoloživo: [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2019/01-01-14\\_01\\_2019.htm](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2019/01-01-14_01_2019.htm)
- Državni zavod za statistiku (2020). Bruto domaći proizvod za Republiku Hrvatsku. NKPJS 2012. – 2. razina i županije u 2017. Raspoloživo: [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2020/12-01-03\\_01\\_2020.htm](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2020/12-01-03_01_2020.htm)
- Grgić I., Prišenk J., Zrakić M. (2016). Animal husbandry in the Republic of Croatia: current situation and expectations. *Meso*. 8 (3): 256-263.
- Grgić I., Zrakić M. (2015). Samodostatnost Republike Hrvatske u proizvodnji govedeg mesa. *Meso*. 17 (1): 51-56.
- Hrvatska poljoprivredna agencija (2020). Godišnja izvješća. Raspoloživo: <https://hpa.mps.hr/publikacije-godisnja-izvjesca/>
- Kranjac D., Zmaić K., Grgić I., Salamon P., Erjavec E. (2020). Accession impact and outlook for Croatian and EU crop and livestock markets. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 18 (1): e0103.
- Zrakić Sušac M., Kranjac D., Mesić Ž. (2020). Srednjoročni razvoj tržišta žitarica u Republici Hrvatskoj - rezultati modela parcijalne ravnoteže. *Journal of Central European agriculture*. 21 (2): 438-451.

## Agricultural production development analysis in the Vukovar-Srijem County

### Abstract

The paper presents an agricultural production development analysis in the Vukovar-Srijem County from 2015 to 2019 through the analysis of historical data on agricultural holdings and land, harvested areas, yield and production of main cereals and oilseeds, and the number of live animals. The analysis of agricultural production in Vukovar-Srijem County generally indicates an increase in the volume of agricultural production, which is primarily related to the increase in the volume of crop production, while the livestock sector is recording negative trends.

**Key words:** analysis, agricultural production, Vukovar-Srijem County



## Karakteristike potrošnje mlijeka kod mlade populacije

Jelena Kristić<sup>1</sup>, Jadranka Deže<sup>1</sup>, Zlata Kralik<sup>1</sup>, Sanja Jelić Milković<sup>1</sup>, Ana Crnčan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (jkristic@fazos.hr)*

### Sažetak

Kako bi se utvrdile karakteristike potrošnje mlijeka kod mlade populacije, provedeno je istraživanje na uzorku od 1.157 ispitanika. Rezultati su pokazali kako gotovo polovica ispitanika (47,3 %) konzumira mlijeko svakodnevno, i to najčešće ujutro (43,8 %). Muški ispitanici gotovo triput više konzumiraju veće mjesečne količine mlijeka u odnosu na ženske ispitanike, kao i ispitanici čiji je mjesečni prihod kućanstva veći od 10.500,00 kuna. Ispitanici kojima je izvor prihoda ostvaren iz poljoprivrednih djelatnosti se više odlučuju za konzumaciju svježeg mlijeka u odnosu na ostale kategorije ispitanika.

**Ključne riječi:** mlijeko, karakteristike potrošnje mlijeka, mlada populacija

### Uvod

Cilj rada je istraživanje karakteristika potrošnje mlijeka kod mlade populacije kao pojedinačnog potrošačkog segmenta. Ovaj potrošački segment zasigurno nema najveću potrošnju mlijeka u odnosu na ostale segmente, ali predstavlja značajan indikator za njihovo buduće ponašanje u kupnji i potrošnji mlijeka i mliječnih proizvoda. Proizvođači svoje promocijske napore moraju pravilno usmjeriti prema svim potrošačkim segmentima, ovisno o njihovim karakteristikama, preferencijama i distinkcijama unutar pojedinih kategorija.

### Materijal i metode

U istraživanju se koristi metoda prikupljanja primarnih podataka upitnikom kao instrumentom istraživanja. Zbog velike opširnosti istraživanja, u radu su prikazani samo dijelovi vezani uz karakteristike potrošnje mlijeka. Ciljna skupina ispitanika su studenti preddiplomskih i diplomskih studija ravnomojno raspoređeni po svim sastavnicama Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, a uzorak je namjeren i obuhvaća 1.157 ispitanika s područja Istočne Hrvatske, od kojih se njih 1.060 izjasnilo konzumentima mlijeka (91,6 %), te su njihovi odgovori uzeti kao relevantni (Kristić i sur., 2015.).

Od ukupnog broja ispitanika, njih 63,2 % je ženskog, a 36,8 % muškog spola, gotovo polovica ispitanika dolazi iz gradskih naselja (47,3 %), njih 14,1 % iz prigradskih naselja, a 38,6 % sa seoskog područja. Ukupno 13,1 % ispitanika ima mjesečni prihod kućanstva manji od 3.999,99 kuna, njih 18,6 % od 4.000,00 - 5.499,99, slijedi 19 % od 8.000,00 - 10.499,99, te 14,5 % s mjesečnim prihodima većim od 10.500,00 kuna, dok 21,8 % ispitanika se nije željelo izjasniti ili nije znalo dati odgovor o mjesečnim prihodima kućanstva. Prihodi njihovih kućanstava ostvaruju se iz nepoljoprivrednih djelatnosti kod 72,4 % ispitanika, dok je u svega 6,4 % kućanstava prihod ostvaren isključivo iz poljoprivrede. U istraživanju se koriste metode deskriptivne statističke analize podataka. Od neparametrijskih testova korišten je hi kvadrat test ( $\chi^2$ -test) kojim se željelo utvrditi postoje li razlike u preferencijama kod ispitanika s obzirom na socioekonomske i demografske varijable (Kristić i sur., 2015.).

## Rezultati i rasprava

Svako pitanje postavljeno ispitanicima je obrađeno hi-kvadrat testom u odnosu na sljedeće varijable: spol, područje, prihod kućanstva i izvor prihoda. U radu su prikazane samo one varijable kod kojih je utvrđena statistička značajnost.

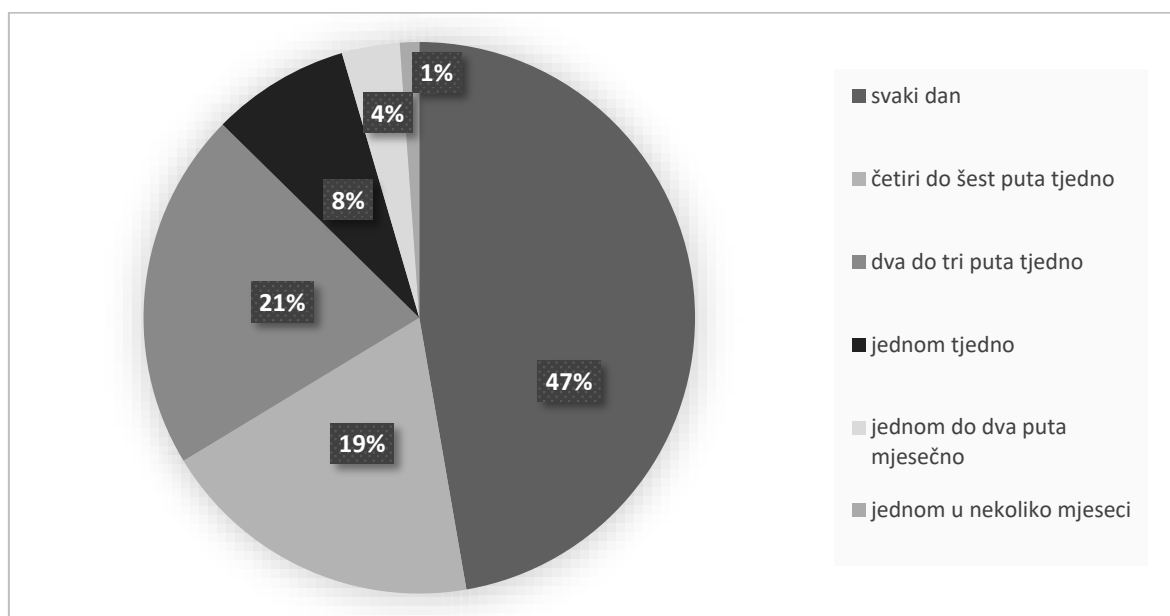
S obzirom na rok trajanja, od 1.060 ispitanika koliko je odgovorilo na ovo pitanje, njih 71,4 % (757 ispitanika) tvrdi da najčešće konzumira trajno mlijeko (Tablica 1).

Tablica 1. Distribucija odgovora s obzirom na konzumaciju mlijeka ovisno o roku trajanja (u %)

		N	svježe mlijeko	trajno mlijeko	sig (p)
Ukupno		100	28,6	71,4	
Izvor prihoda	Nepoljop. djelatnosti	72,08	25,80	74,20	<0,01**
	Nepoljop. i poljop.	21,41	32,60	67,40	
	Isključivo poljoprivreda	6,51	46,40	53,60	

Napomena: Za utvrđivanje razlika u konzumaciji mlijeka s obzirom na kategorije odgovora demografskih varijabli izračunati su hi-kvadrat testovi ( $\chi^2$ ), \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .

Postoji statistički značajna razlika u konzumaciji mlijeka s obzirom na rok trajanja u odnosu na osnovni izvor prihoda, ( $\chi^2 = 15,42$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0,01$ ). Ispitanici čiji je prihod kućanstva ostvaren iz poljoprivrednih djelatnosti se u odnosu na ostale podkategorije ispitanika, najviše odlučuju za svježe mlijeko (46,40 %), dok se za trajno mlijeko najviše odlučuju ispitanici čiji je prihod kućanstva ostvaren iz nepoljoprivrednih djelatnosti (74,20 %). Iako više konzumiraju trajno mlijeko u odnosu na svježe, i u istraživanju Celik Ates i Ceylan (2010.) ispitanici koji se bave poljoprivrednom djelatnošću u znatnoj mjeri više konzumiraju svježe mlijeko u odnosu na one koji se ne bave poljoprivredom.



Grafikon 1. Distribucija odgovora s obzirom na učestalost konzumacije mlijeka (u %)

Gotovo polovica uzorka, njih 47,3 %, konzumira mlijeko svaki dan, 19,1 % četiri do šest puta tjedno, 21,0 % dva do tri puta tjedno, 8,1 % jednom tjedno, 3,4 % jednom do dva puta mjesečno, te 1,1 % jednom u nekoliko mjeseci (Grafikon 1).

Na pitanje koliko mlijeka prosječno popiju mjesečno, 28,9 % ispitanika odgovorilo je da popiju manje od 3 l (306 ispitanika), a njih 27,5 %, odgovorilo je da popije od 3 - 4,99 l (Tablica 2). Postoji statistički značajna razlika u prosječnoj mjesečnoj konzumaciji mlijeka u odnosu na spol ( $\chi^2 = 49,302$ ,  $df = 4$ ,  $p < 0,01$ ) te u odnosu na mjesečni prihod kućanstva ( $\chi^2 = 39,815$ ,  $df = 20$ ,  $p < 0,01$ ).

Tablica 2. Distribucija odgovora s obzirom na količinu mlijeka koju ispitanici popiju mjesečno (u %)

		N	< 3 l	3 - 4,99l	5 - 6,99l	7 - 9,99l	> 10 l	sig (p)
Ukupno		100	28,9	27,5	22,4	9,9	11,4	
Spol	Muški	36,51	23,3	22,5	24,0	10,6	19,6	<0,01**
	Ženski	63,49	32,1	30,3	21,4	9,5	6,7	
Prihod kućanstva	Do 3.999	16,69	27,3	32,4	17,3	12,9	10,1	<0,01**
	4.000 - 5.499	23,04	22,4	36,5	26,6	7,8	6,8	
	5.500 - 7.999	25,21	30,0	26,7	20,5	11,0	11,9	
	8.000 - 10.499	16,69	33,8	27,3	18,7	7,2	12,9	
	Više od 10.500	18,37	28,8	14,4	28,8	11,8	16,3	

Napomena: Broj ispitanika u kategoriji „Prihod kućanstva“ (833) se razlikuje od broja ispitanika (1.060) u drugim varijablama, jer se neki ispitanici nisu željeli ili nisu znali izjasniti o prihodima kućanstva. Za utvrđivanje razlika u konzumaciji mlijeka s obzirom na kategorije odgovora demografskih varijabli izračunati su hi-kvadrat testovi ( $\chi^2$ ), \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .

Skoro petina muških ispitanika mjesečno konzumira preko 10 l mlijeka (19,6 %), dok je kod ženskih ispitanika taj postotak gotovo triput manji (6,7 %). Količinu veću od 10 l mjesečno najviše konzumiraju (16,3 %), u odnosu na ostale kategorije, ispitanici čiji je mjesečni prihod kućanstva veći od 10.500 kuna. Veće količine konzumacije mlijeka muških ispitanika su karakteristični i u ispitivanju Colić Barić (2001.) i Colić Barić i sur. (2001.) gdje je dokazan niži unos kalcija među ispitanicima ženskog spola. Gulliver i Horwath (2001.) također naglašavaju kako većina žena u njihovom istraživanju konzumira manje od dva mliječna obroka dnevno.

Tablica 3. Distribucija odgovora s obzirom na doba dana kada ispitanici najčešće konzumiraju mlijeko (u %)

		N	ujutro	podne	navečer	tijekom cijelog dana	sig (p)
Ukupno		100	43,8	4,30	21,0	30,9	
Spol	Muški	36,51	37,3	4,90	25,4	32,4	<0,01**
	Ženski	63,49	47,6	4,00	18,5	30,0	
Izvor prihoda	Nepoljop. djelatnosti	16,69	42,5	4,90	20,8	31,9	<0,05*
	Nepoljop. i poljop.	23,04	48,6	2,40	18,5	30,5	
	Isključivo poljoprivreda	25,21	42,9	4,30	32,9	20,0	

Napomena: Za utvrđivanje razlika u konzumaciji mlijeka s obzirom na kategorije odgovora demografskih varijabli izračunati su hi-kvadrat testovi ( $\chi^2$ ), \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .

Gotovo polovica ispitanika, njih 43,8 %, konzumira mlijeko ujutro. Njih 30,9 % konzumira mlijeko tijekom cijelog dana (Tablica 3). I u istraživanju Krešić i sur. (2010.) mliječni obroci se najčešće konzumiraju ujutro uz doručak.

Tablica 4. Distribucija odgovora s obzirom na doba dana kada ispitanici najčešće konzumiraju mlijeko u odnosu na pitanje o učestalosti konzumacije mlijeka

		U koje doba dana najčešće konzumirate mlijeko i mliječne proizvode?				
		ujutro	podne	navečer	tijekom cijelog dana	
Koliko često konzumirate mlijeko?	Svaki dan	N	222	14	81	184
		%	44,3 %	2,8 %	16,2 %	36,7 %
	Četiri do šest puta tjedno	N	91	9	42	60
		%	45,0 %	4,5 %	20,8 %	29,7 %
	Dva do tri puta tjedno	N	92	8	61	62
		%	41,3 %	3,6 %	27,4 %	27,8 %
	Jednom tjedno	N	36	9	18	23
		%	41,9 %	10,5 %	20,9 %	26,7 %
	Jednom do dva puta mjesečno	N	12	4	13	7
		%	33,3 %	11,1 %	36,1 %	19,4 %
	Jednom u nekoliko mjeseci	N	4	2	5	1
		%	33,3 %	16,7 %	41,7 %	8,3 %

Tablica 5. Distribucija odgovora s obzirom na doba dana kada ispitanici najčešće konzumiraju mlijeko u odnosu na pitanje o količini mlijeka koju ispitanici popiju mjesečno

		U koje doba dana najčešće konzumirate mlijeko?				
		ujutro	podne	navečer	tijekom cijelog dana	
Koliko mlijeka prosječno popijete mjesečno?	Manje od 3 l	N	140	25	68	73
		%	45,8 %	8,2 %	22,2 %	23,9 %
	Od 3-4,99 l	N	138	6	58	89
		%	47,4 %	2,1 %	19,9 %	30,6 %
	Od 5-6,99 l	N	104	9	51	73
		%	43,9 %	3,8 %	21,5 %	30,8 %
	Od 7-9,99 l	N	43	3	17	42
		%	41,0 %	2,9 %	16,2 %	40,0 %
	Više od 10 l	N	32	3	26	60
		%	26,4 %	2,5 %	21,5 %	49,6 %

Postoji statistički značajna razlika u konzumaciji mlijeka s obzirom na doba dana u odnosu na spol ispitanika ( $\chi^2 = 13,66$ ,  $df = 3$ ,  $p < 0,01$ ), kao i u odnosu na izvor prihoda ispitanika ( $\chi^2 = 12,81$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0,05$ ). Ženski ispitanici se u većem postotku (47,6 %) u odnosu na muške ispitanike odlučuju za konzumaciju mlijeka ujutro (37,3 %). Statistički značajna razlika postoji i u odgovorima na pitanje „U koje doba dana najčešće konzumirate mlijeko“ s obzirom na pitanje „Koliko često konzumirate mlijeko“ ( $\chi^2 = 46,22$ ,  $df = 15$ ,  $p < 0,01$ ). Oni koji konzumiraju mlijeko vrlo često, u nešto većem postotku u odnosu na ostale kategorije, konzumiraju mlijeko ujutro (44,3 % i 45 %) i tijekom cijelog dana (36,7 % i 29,7 %) (Tablica 4). Usporedbom odgovora na pitanje „U koje doba dana najčešće konzumirate mlijeko“ u

odnosu na pitanje „Koliko mlijeka prosječno popijete“ ( $\chi^2 = 47,28$ ,  $df = 12$ ,  $p < 0,01$ ) također se uočava statistički značajna razlika. Oni koji konzumiraju najveće količine mlijeka tijekom jednog mjeseca, najviše ga konzumiraju tijekom cijelog dana (49,6 %) (Tablica 5).

### Zaključak

Rezultati istraživanja pokazuju kako mlada populacija, ovisno o pojedinim varijablama, ima različite karakteristike potrošnje mlijeka. Utvrđene su statističke značajne razlike između izvora prihoda ispitanika i konzumacije mlijeka ovisno o roku trajanja ( $p < 0,01$ ), pri čemu se ispitanici kojima je izvor prihoda ostvaren iz poljoprivrede više odlučuju za svježije mlijeko u odnosu na ostale podkategorije ispitanika. Također su utvrđene statistički značajne razlike kod spola ( $p < 0,01$ ) i prihoda kućanstva ( $p < 0,01$ ) i mjesečne količine konzumiranog mlijeka. Muški ispitanici gotovo triput više konzumiraju veće mjesečne količine ( $> 10$  l) mlijeka u odnosu na ženske ispitanike. Gotovo polovica ispitanika konzumira mlijeko svakodnevno i to većinom ujutro.

### Literatura

- Celik Ates H., Ceylan M. (2010). Effects of socio-economic factors on the consumption of milk, yoghurt, and cheese. *British Food Journal*. 112 (3): 234-250.
- Colić Barić I. (2001). A comparison of nutrition knowledge, attitudes and dairy consumption of school children according to age and gender. *Mljekarstvo*. 51 (1): 3-14.
- Colić Barić I., Cvijetić S., Jureša V., Šatalić Z. (2001). Milk and dairy products in adolescent diet according to sex and living area. *Mljekarstvo*. 51 (3): 205-214.
- Gulliver P., Horwath C.C. (2001). Assessing women's perceived benefits, barriers, and stage of change for meeting milk products consumption recommendations. *Journal of the American Dietetic Association*. 101 (11): 1354-1357.
- Krešić G., Herceg Z., Lelas V., Režek Jambrak A. (2010). Consumers' behaviour and motives for selection of dairy beverages in Kvarner region: a pilot study. *Mljekarstvo*. 60 (1): 50-58.
- Kristić J., Deže J., Bobić T., Fosić I., Živoder D., Crnčan A. (2015). Potrošačke preferencije studentske populacije kao odrednica uspješnog upravljanja kvalitetom mlijeka. *Mljekarstvo*. 65 (4): 287-295.

## Characteristics of milk consumption among young population

### Abstract

A research was conducted on a sample of 1,157 respondents with an aim to establish characteristics of milk consumption among young population. The results showed that almost half of the respondents (47.3 %) consume milk every day, most often in the morning (43.8 %). Male respondents consume almost three times more larger monthly amounts of milk compared to female respondents, as well as respondents whose monthly household income exceeds HRK 10,500.00. Respondents whose source of income came from agricultural activities are more likely to consume fresh milk compared to other categories of respondents.

**Key words:** milk, characteristic of milk consumption, young population

## Karakteristike potrošnje fermentiranih i „low fat“ mliječnih proizvoda kod mlade populacije

Jelena Kristić<sup>1</sup>, Tihana Sudarić<sup>1</sup>, Kristina Gvozdanović<sup>1</sup>, Dubravka Živoder<sup>2</sup>, Ana Crnčan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (jkristic@fazos.hr)

<sup>2</sup>Ministarstvo poljoprivrede, Uprava za stočarstvo i kvalitetu hrane, Ilica 101, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Kako bi se utvrdile karakteristike potrošnje fermentiranih i „low fat“ proizvoda, provedeno je anketno istraživanje na uzorku od 1.157 ispitanika koji spadaju u segment mlade populacije (18 - 25 godina). Rezultati su pokazali kako velik broj ispitanika (89 %) konzumira fermentirane mliječne proizvode. Žene ih u većoj mjeri ( $p < 0,01$ ) i češće ( $p < 0,01$ ) konzumiraju u odnosu na muške ispitanike. Najveća potrošnja je ostvarena u kategoriji ispitanika s najvećim mjesečnim prihodom kućanstva. Nešto manje od polovice ispitanika (49,5 %) konzumira „low fat“ mliječne proizvode. Ponovno su ženski ispitanici ti koji više konzumiraju ( $p < 0,01$ ) ovu vrstu mliječnih proizvoda u odnosu na muške ispitanike.

**Ključne riječi:** fermentirani mliječni proizvodi, „low fat“ mliječni proizvodi, potrošnja, mlada populacija

### Uvod

Osnovni kemijski sastav fermentiranih mliječnih proizvoda velike je nutritivne vrijednosti. Glavni sastojci su proteini, mast, ugljikohidrati, mineralne tvari i vitamini. Proizvode se korištenjem različitih vrsta mlijeka i mješovitih kultura bakterija mliječne kiseline i probiotičkih mikroorganizama (Tamime i sur., 2003.). Najpoznatiji fermentirani mliječni proizvodi su jogurt, kefir, acidofilno mlijeko, kiselo vrhnje, kiselo mlijeko i sirutka. Od nabrojanih proizvoda, jogurt i kiselo vrhnje su zasigurno potrošačima najpoznatiji mliječni proizvodi. Potrošačima su vrlo privlačni zbog utjecaja na zdravlje (Krešić i sur., 2010.). Još jedna skupina mliječnih proizvoda sve više dobiva na važnosti, a to su „low fat“ mliječni proizvodi. Ova vrsta proizvoda osigurava sve koristi konzumiranja mliječnih proizvoda, ali sa smanjenim udjelom masti i kolesterola (Robb i sur., 2007.). Cilj rada je istraživanje karakteristika potrošnje fermentiranih i „low fat“ proizvoda kod mlade populacije kao pojedinačnog potrošačkog segmenta.

### Materijal i metode

U istraživanju se koristi metoda prikupljanja primarnih podataka upitnikom kao instrumentom istraživanja. Zbog velike opširnosti istraživanja, u radu su prikazani samo dijelovi vezani uz karakteristike potrošnje mlijeka. Ciljna skupina ispitanika su studenti preddiplomskih i diplomskih studija ravnomjerno raspoređeni po svim sastavnicama Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, a uzorak je namjeran i obuhvaća 1.157 ispitanika s područja Istočne Hrvatske, od kojih se njih 1.060 izjasnilo konzumentima mlijeka (91,6 %), te su njihovi odgovori uzeti kao relevantni (Kristić i sur., 2015.). Od ukupnog broja ispitanika, njih 63,2 % je ženskog, a 36,8 % muškog spola, gotovo polovica ispitanika dolazi iz gradskih naselja (47,3 %), njih 14,1 % iz prigradskih naselja, a 38,6 % sa seoskog područja. Ukupno 13,1 % ispitanika ima mjesečni prihod kućanstva manji od 3.999,99 kuna, njih 18,6 % od 4.000,00 - 5.499,99, slijedi 19 % od 8.000,00 - 10.499,99, te

14,5 % s mjesečnim prihodima većim od 10.500,00 kuna, dok 21,8 % ispitanika se nije željelo izjasniti ili nije znalo dati odgovor o mjesečnim prihodima kućanstva. Prihodi njihovih kućanstava ostvaruju se iz nepoljoprivrednih djelatnosti kod 72,4 % ispitanika, dok je u svega 6,4 % kućanstava prihod ostvaren isključivo iz poljoprivrede. Podaci prikupljeni u istraživanju su obrađeni paketom SPSS Statistics Desktop, V17.00, dok se u istraživanju koriste metode deskriptivne statističke analize podataka. Od neparametrijskih testova korišten je hi kvadrat test ( $\chi^2$  – test) kojim se željelo utvrditi postoje li razlike u preferencijama kod ispitanika s obzirom na socioekonomske i demografske varijable (Krstić i sur., 2015.).

## Rezultati i rasprava

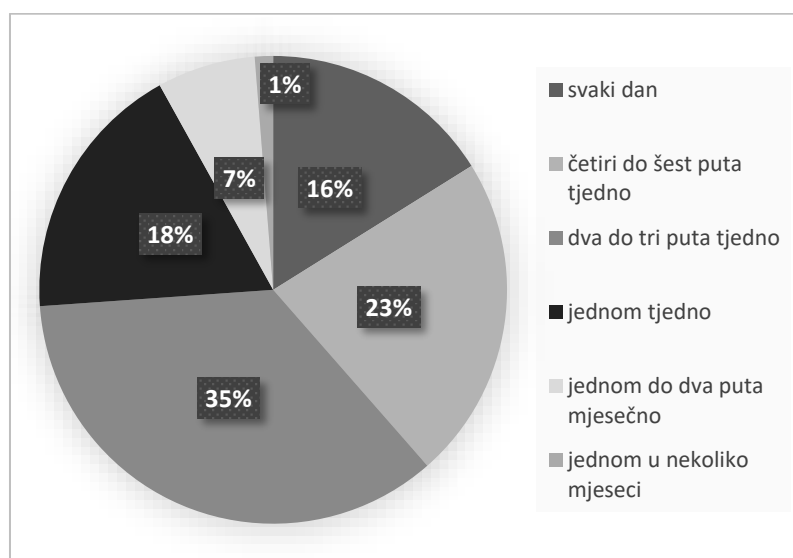
Svako pitanje postavljeno ispitanicima je obrađeno u odnosu na demografske varijable: spol, područje, prihod kućanstva i izvor prihoda. U radu su prikazane samo one varijable kod kojih je utvrđeno postojanje statističke značajnosti.

Tablica 1. Distribucija odgovora s obzirom na konzumaciju fermentiranih mliječnih proizvoda (u %)

		N	da	ne	sig (p)
Ukupno		100	89,0	11,0	
Spol	Muški	36,51	84,5	15,5	<0,01**
	Ženski	63,49	91,7	8,30	

Napomena: Za utvrđivanje razlika u konzumaciji fermentiranih mliječnih proizvoda s obzirom na kategorije odgovora demografskih varijabli izračunati su hi-kvadrat testovi ( $\chi^2$ ), \*p<0,05; \*\*p<0,01.

Od ukupnog broja ispitanika, čak 89 % ispitanika, njih 1.030, je odgovorilo kako konzumira fermentirane mliječne proizvode (Tablica 1). Postoji statistički značajna razlika u konzumaciji fermentiranih mliječnih proizvoda s obzirom na spol ( $\chi^2 = 14,074$ , df = 1, p < 0,01). Ženski ispitanici u većoj mjeri konzumiraju fermentirane proizvode u odnosu na muške ispitanike. Slične podatke dobili su i Krešić i sur. (2010.) koji navode kako ženski potrošači češće (p = 0,002) i u većoj mjeri (p < 0,001) konzumiraju fermentirane proizvode u odnosu na muške potrošače.



Grafikon 1. Distribucija odgovora s obzirom na učestalost konzumacije fermentiranih mliječnih proizvoda (u %)

Najveći broj ispitanika, njih 35,3 %, tvrdi da fermentirane mliječne proizvode konzumira dva do tri puta tjedno, 16,1 % svaki dan, 22,4 % četiri do šest puta tjedno, 18,1 % jednom tjedno, 6,8 % jednom do dva puta mjesečno, 1,3 % jednom u nekoliko mjeseci (Grafikon 1). Postoji statistički značajna razlika u učestalosti konzumacije fermentiranih mliječnih proizvoda s obzirom na spol ( $\chi^2 = 18,326$ ,  $df = 5$ ,  $p < 0,01$ ). Od ukupnog broja ispitanika, 18,7 % ženskih ispitanika konzumira fermentirane mliječne proizvode svaki dan, a 22,2 % četiri do šest puta tjedno u odnosu na 11,4 % muških ispitanika koji konzumiraju iste proizvode svaki dan te 22,8 % četiri do šest puta tjedno. I u istraživanju Miklavac i sur. (2015.) čak 68% ispitanika konzumira jogurt barem nekoliko puta tjedno. Slične postotke dobio je i Matić (2008.). U njegovom istraživanju, 47,5 % ispitanika konzumira jogurt, kefir i kiselo mlijeko svakodnevno, 10,8 % jednom u tjedan dana, 15,0 % dvaput u tjedan dana, 1,7 % jednom mjesečno i 4,2 % dvaput mjesečno.

Tablica 2. Distribucija odgovora s obzirom na količinu fermentiranih mliječnih proizvoda koju ispitanici konzumiraju mjesečno (u %)

		N	<2kg	2- 3,99kg	4- 5,99kg	>6kg	sig (p)
Ukupno		100	59,3	29,0	10,0	1,7	
Prihod kućanstva	Do 3.999	16,69	57,7	31,4	10,2	0,7	<0,05*
	4.000 - 5.499	23,04	47,4	38,5	13,0	1,0	
	5.500 - 7.999	25,21	64,7	27,0	6,9	1,5	
	8.000 - 10.499	16,69	59,2	27,7	10,8	2,3	
	Više od 10.500	18,37	59,4	24,5	12,6	3,5	

Napomena: Broj ispitanika u kategoriji „Prihod kućanstva“ (810) se razlikuje od broja ispitanika koji konzumiraju fermentirane mliječne proizvode (1.030) u drugim varijablama, jer se neki ispitanici nisu željeli ili nisu znali izjasniti o prihodima kućanstva. Za utvrđivanje razlika u konzumaciji fermentiranih mliječnih proizvoda s obzirom na kategorije odgovora demografskih varijabli izračunati su hi-kvadrat testovi ( $\chi^2$ ), \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .

Više od polovice ispitanika, njih 59,3 %, odgovorilo je kako prosječno mjesečno konzumira manje od 2 kg fermentiranih mliječnih proizvoda (Tablica 2). Postoji statistički značajna razlika u prosječnoj mjesečnoj konzumaciji fermentiranih mliječnih proizvoda u odnosu na pitanje o mjesečnom prihodu kućanstva ( $\chi^2 = 26,01$ ,  $df = 15$ ,  $p < 0,05$ ). Najveća potrošnja fermentiranih mliječnih proizvoda, više od 6 kg mjesečno, ostvarena je u kategoriji ispitanika s najvećim mjesečnim prihodom kućanstva. Slične rezultate dobili su i Celik Ates i Ceylan (2010.) koji su dokazali kako ispitanici s najvećim prihodima ostvaruju najveće postotke u mjesečnoj konzumaciji.

Tablica 3. Distribucija odgovora s obzirom na konzumaciju „low fat“ mliječnih proizvoda (u %)

		N	da	ne	sig (p)
Ukupno		100	49,5	50,5	
Spol	Muški	36,51	36,4	63,6	<0,01**
	Ženski	63,49	57,2	42,8	
Prihod kućanstva	Do 3.999	16,69	48,0	52,0	<0,01**
	4.000 - 5.499	23,04	67,4	32,6	
	5.500 - 7.999	25,21	45,5	54,5	
	8.000 - 10.499	16,69	46,0	54,0	
	Više od 10.500	18,37	47,0	53,0	
Izvor prihoda	Nepoljoprivredne djelatnosti	16,69	47,1	52,9	<0,05*



Poljoprivreda	i	23,04	58,2	41,8
nepoljoprivreda				
Isključivo poljoprivreda		25,21	47,1	52,9

Napomena: Broj ispitanika u kategoriji „Prihod kućanstva“ (810) se razlikuje od broja ispitanika koji konzumiraju „low fat“ mliječne proizvode u drugim varijablama, jer se neki ispitanici nisu željeli ili nisu znali izjasniti o prihodima kućanstva. Za utvrđivanje razlika u konzumaciji „low fat“ mliječnih proizvoda s obzirom na kategorije odgovora demografskih varijabli izračunati su hi-kvadrat testovi ( $\chi^2$ ), \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .

Od ukupnog broja ispitanika, 50,5 % je odgovorilo kako ne konzumira „low fat“ mliječne proizvode, dok ih je 49,5 % odgovorilo kako ih konzumira (Tablica 3). Postoji statistički značajna razlika u konzumaciji „low fat“ mliječnih proizvoda s obzirom na spol ( $\chi^2 = 46,57$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0,01$ ). U istraživanju Colić Barić (2001.) i Colić Barić i sur. (2001.) vidljivo je kako čak i djevojčice prije puberteta više konzumiraju mliječne proizvode sa smanjenim udjelom masnoće ( $< 1,6$  %) u odnosu na dječake koji konzumiraju proizvode s većim udjelom masti. U istraživanju Krešić i sur. (2010.) 67 % žena često koristi „low fat“ proizvode u odnosu na 30 % muškaraca ( $p = 0,043$ ), vrlo često zbog brige o zdravlju i tjelesnoj težini. Postoji statistički značajna razlika u konzumaciji „low fat“ mliječnih proizvoda s obzirom na mjesečni prihod kućanstva ispitanika ( $\chi^2 = 35,40$ ,  $df = 5$ ,  $p < 0,01$ ), gdje je najveći postotak konzumacije ove vrste proizvoda ostvaren u prihodnoj kategoriji 4.000 - 5.499 kuna. Statistički značajna razlika postoji i s obzirom na osnovni izvor prihoda ( $\chi^2 = 9,63$ ,  $df = 2$ ,  $p < 0,01$ ).

Tablica 4. Distribucija odgovora s obzirom na pitanja o konzumaciji mlijeka i fermentiranih mliječnih proizvoda

		Konzumirate li mlijeko?		
		da	ne	
Konzumirate li fermentirane mliječne proizvode?	Da	N	981	49
		%	95,2 %	4,8 %
	Ne	N	77	50
		%	60,6 %	39,4 %

Postoji statistički značajna razlika u konzumaciji fermentiranih mliječnih proizvoda u odnosu na konzumaciju mlijeka ( $\chi^2 = 173,13$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0,01$ ). Iznimno velik broj ispitanika (95,2 %) koji konzumiraju mlijeko, konzumiraju i fermentirane mliječne proizvode (Tablica 4).

Tablica 5. Distribucija odgovora s obzirom na pitanja o konzumaciji fermentiranih mliječnih proizvoda i „low fat“ mliječnih proizvoda

		Konzumirate li fermentirane mliječne proizvode?		
		da	ne	
Konzumirate li „low fat“ mliječne proizvode?	Da	N	524	49
		%	91,4 %	8,6 %
	Ne	N	506	78
		%	86,6 %	13,4 %

Postoji statistički značajna razlika u konzumaciji fermentiranih mliječnih proizvoda i konzumaciji „low fat“ mliječnih proizvoda ( $\chi^2 = 6,83$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0,01$ ). Čak 91,4 % ispitanika koji konzumiraju fermentirane mliječne proizvode, konzumiraju i „low fat“ mliječne proizvode (Tablica 5).

## Zaključak

Rezultati istraživanja pokazuju kako mlada populacija, ovisno o pojedinim varijablama, ima različite karakteristike potrošnje fermentiranih i „low fat“ mliječnih proizvoda. Iznimno velik broj ispitanika (89 %) konzumira fermentirane mliječne proizvode. Žene ih u većoj mjeri ( $p < 0,01$ ) i češće ( $< 0,01$ ) konzumiraju u odnosu na muške ispitanike. Najveća potrošnja je ostvarena u kategoriji ispitanika s najvećim mjesečnim prihodom kućanstva. Nešto manje od polovice ispitanika (49,5 %) konzumira „low fat“ mliječne proizvode. Ponovno su ženski ispitanici ti koji više konzumiraju ( $p < 0,01$ ) ovu vrstu mliječnih proizvoda u odnosu na muške ispitanike.

## Literatura

- Celik Ates H., Ceylan M. (2010). Effects of socio-economic factors on the consumption of milk, yoghurt, and cheese. *British Food Journal*. 112 (3): 234-250.
- Colić Barić I. (2001). A comparison of nutrition knowledge, attitudes and dairy consumption of school children according to age and gender. *Mljekarstvo*. 51 (1): 3-14.
- Colić Barić I., Cvijetić S., Jureša V., Šatalić Z. (2001). Milk and dairy products in adolescent diet according to sex and living area. *Mljekarstvo*. 51 (3): 205-214.
- Krešić G., Herceg Z., Lelas V., Režek Jambrak A. (2010). Consumers' behaviour and motives for selection of dairy beverages in Kvarner region: a pilot study. *Mljekarstvo*. 60 (1): 50-58.
- Kristić J., Deže J., Bobić T., Fosić I., Živoder D., Crnčan A. (2015). Potrošačke preferencije studentske populacije kao odrednica uspješnog upravljanja kvalitetom mlijeka. *Mljekarstvo*. 65 (4): 287-295.
- Matić A. (2008). Tržište mlijeka i mliječnih prerađevina u jugozapadnoj Bosni. *Agronomski glasnik*, 2 (2008): 171-204.
- Miklavec K., Pravst I., Grunert K., Klopčič M., Pohar J. (2015). *Food Quality and Preference* 43: 26-33.
- Robb C.A., Reynolds L.M., Abdel-Ghany M. (2007). Consumer preference among fluid milks: low-fat vs. high-fat milk consumption in the United States. *International Journal of Consumer Studies*. 90-94.
- Tamime A.Y., Božanić R., Rogelj I. (2003). Probiotički fermentirani mliječni proizvodi. *Mljekarstvo*. 53 (2): 111-134.

## Characteristics of fermented and low-fat dairy products consumption among young population

### Abstract

A research was conducted on a sample of 1,157 respondents with an aim to establish characteristics of fermented and low-fat dairy products consumption among young population (18 - 25 years). The results showed that a large number of respondents (89 %) consume fermented dairy products. Female respondents consume them to a greater extent ( $p < 0.01$ ) and more often ( $p < 0.01$ ) than male respondents. The highest consumption was achieved in the category of respondents with the highest household monthly income. Slightly less than half of the respondents (49.5 %) consume low-fat dairy products. Again, female respondents consume more ( $p < 0.01$ ) of this type of dairy products compared to male respondents.

**Key words:** fermented dairy products, low fat dairy products, consumption, young population

## Izvanobiteljska sukcesija poljoprivrednih gospodarstava iz perspektive mladih

Slavica Kuzmić<sup>1</sup>, Tea Perlić<sup>1</sup>, Đurđica Žutinić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta, Zagreb, Hrvatska (dzutinic@agr.hr)*

### Sažetak

Rad se temelji na rezultatima empirijskog istraživanja provedenog 2020. godine na uzorku mladih u dobi od 18 do 40 godina. Cilj rada bio je utvrditi stavove mladih o problemu nasljeđivanja poljoprivrednih gospodarstava i upoznatost s modelom izvanobiteljske sukcesije. Ispitivanje je provedeno *on line* anketom, a ostvareni prigodni uzorak obuhvatio je 141 ispitanika. Rezultati pokazuju da većina mladih percipira problem sužene reprodukcije obiteljskih gospodarstava u Hrvatskoj, a kao glavni uzrok vide u slabom interesu mladih da se bave poljoprivredom. Svega 14,2 % ispitanika upoznato je s modelom izvanobiteljske sukcesije. Iako su mladi najviše skloni tradicionalnom obrascu nasljeđivanja, više od trećine (36,2 %) bi odabralo model izvanobiteljske sukcesije poljoprivrednog gospodarstva.

**Ključne riječi:** izvanobiteljska sukcesija, obiteljsko gospodarstvo, mladi poljoprivrednici, mladi

### Uvod

Obiteljska poljoprivredna gospodarstva (OPG) su dominantni oblik organizacije poljoprivrede u Hrvatskoj, odnosno u Europskoj uniji (EU), i višestruko pridonose vitalnosti i održivosti ruralne ekonomije proizvodnjom visokokvalitetnih i raznolikih proizvoda i usluga, demografskoj stabilizaciji i očuvanju lokalne prirodne i kulturne baštine. Najočitiya strukturna promjena koja se dešava u poljoprivredi EU-28 je pad broja gospodarstava manjih zemljišnih površina i starenje nositelja poljoprivrednih gospodarstava (Zagata i Sutherland, 2015.), što predstavlja rizik za opstojnost i održivi razvoj obiteljske poljoprivrede. Godine 2016. u EU-28 je bilo 10,5 milijuna poljoprivrednih gospodarstava, od čega su 95 % kategorizirana kao obiteljska poljoprivredna gospodarstva. Prema zadnjim podacima Eurostata (2016. god.), gotovo trećina (32,3 %) nositelja OPG-a u EU-28 su bili stariji od 65 godina, dok je udio mladih voditelja u dobi do 40 godina, bio svega 9,8 %. U Hrvatskoj je prema istim podacima, udio nositelja OPG-a s 65 i više godina bio na razini prosjeka EU (32,7 %), isto kao i mladih (9,6 %). U poljoprivredi EU znatno povoljnija je dobna struktura upravitelja neobiteljskih ili korporativnih poljoprivrednih gospodarstava. Tako je 2016. godine na tim gospodarstvima na prosječnoj razini EU, udio mladih menadžera do 40 godina starosti bio 17 %.

Generacijska obnova predstavlja veliki izazov za budućnost europske poljoprivrede. Jedan od načina prevladavanja tog izazova je uvođenje modela izvanobiteljske sukcesije ili nasljeđivanja. Cilj primjene tog modela je očuvanje postojećih poljoprivrednih gospodarstava koja nemaju nasljednika i olakšati ulazak mladih u poljoprivredu. Izvanobiteljska sukcesija uključuje prijenos vlasništva i kontrole poslovanja poljoprivrednog gospodarstva od strane umirovljenog poljoprivrednika prema 'nenasljedniku', odnosno na osobu koja nije član obitelji. To nužno ne zahtijeva da poljoprivrednik ode s gospodarstva, nego je moguć i zajednički suživot s mladim doseljenikom (engl. *new entrant*) koji će preuzeti gospodarstvo (Berthollet i sur., 2016.).

Prema Korzenszky (2019.) radi se o poljoprivredno - neobiteljskoj suradnji koja spaja starije poljoprivrednike bez nasljednika i mlađe poljoprivrednike koji nemaju pristup zemljištu ili im nedostaje kapital za pokretanje vlastite poljoprivredne proizvodnje. Cassidy (2019.) izvanobiteljsku sukcesiju određuje kao zamjenu generacija koja se događa u poljoprivrednim kućanstvima, što nudi mogućnost promjena u poljoprivrednoj proizvodnji vezano za investiranje i povećanje inputa. Ilbery i sur. (2012.) spominju dva pristupa izvanobiteljskom nasljeđivanju. Prvi je vezan uz izravno umirovljenje starijih poljoprivrednika i preuzimanje gospodarstva od strane mladih neobiteljskih članova, dok je drugi postupan i uključuje paket mjera i financijske potpore za planiranje nasljeđivanja i umirovljenje, za mentorstvo i posredovanje, osiguranje stanovanja i dr., namijenjen starijim i mlađim poljoprivrednicima. Izvanobiteljska sukcesija nudi perspektivu i za održavanje i manjih obiteljskih gospodarstava (Korzenszky, 2019.), mladim poljoprivrednicima olakšava pristup zemljištu i ostalim proizvodnim resursima (Access to Land, 2018.), doprinosi razvoju novoga poduzetništva, multifunktionalnosti i primjeni inovativnih praksi u poljoprivredi koje sa sobom donose mladi i obrazovani doseljenici (McKee i sur., 2018.).

Općenito, prijenos poljoprivrednog gospodarstva sa starije na mlađu generaciju je složen, često i dugotrajan proces, koji uključuje različite faze, usklađivanje i donošenje odluka, izgradnju povjerenja, dogovoravanje i suradnju između generacija (Lobley i sur., 2010.), bez obzira na to radi li se o unutarobiteljskoj ili izvanobiteljskoj sukcesiji. Na osnovi empirijskih spoznaja Berthollet i sur. (2016.) opisuju proces ili putanju izvanobiteljskog nasljeđivanja koji se sastoji od osam analitičkih faza (više vidi Berthollet i sur., 2016.). Da bi započeo taj proces nužno ja da postoji svijesnost i želja kod oba sudionika: (a) prenositelja odnosno starijih poljoprivrednika koji trebaju biti svijesni potrebe i motivirani za prijenos gospodarstva na mlađu generaciju i (b) preuzimatelja, odnosno svijesnost mladih koji većinom dolaze iz grada i obično su visoko obrazovani, a žele se profesionalno baviti poljoprivredom (Berthollet i sur., 2016.).

U ovom radu propituje se mišljenje mladih koji imaju određeno „iskustvo“ iz poljoprivrede, o izvanobiteljskom obliku nasljeđivanja. Cilj je rada ustanoviti kako mladi percipiraju problem socijalne reprodukcije OPG-a u Hrvatskoj, jesu li upoznati s modelom izvanobiteljske sukcesije i bi li odabrali taj model za stjecanje vlastitoga gospodarstva.

## Materijal i metode

Rad se temelji na podacima prikupljenim u okviru šireg stručnog projekta "Usvoji farmu - *Adapt Farm*", koji se provodi na dvoetaptom uzorku mladih osoba koje dolaze iz ruralnih i urbanih sredina i starijih poljoprivrednika, voditelja/nositelja OPG-a (Kuzmić i Perlić, 2020.). U ovome radu se prikazuje dio anketnog istraživanja provedenog među mladima.

Određivanje uzorka mladih temeljeno je na dva kriterija: (a) osoba treba biti u dobi od 18 do 40 godina i (b) imati neko iskustvo iz poljoprivrede (npr. živjeti na roditeljskom gospodarstvu koje se aktivno bavi poljoprivredom ili samostalno se baviti poljoprivredom ili se školovati za poljoprivredno zanimanje). Ispitivanje je provedeno 2020. godine *on line* anketom, a ostvareni prigodni uzorak obuhvatio je 141 ispitanika.

Upitnik se sastojao od ukupno 24 pitanja koja mjere osnovne socijalno-demografske karakteristike i rezidencijalni položaj sudionika, želju za bavljenjem poljoprivredom i posjedovanjem vlastitog poljoprivrednog gospodarstva, samoprocjenu sposobnosti vođenja poljoprivrednog gospodarstva, viđenje problema i mogućih rješenja za uspješniju sukcesiju OPG-a u Hrvatskoj, zainteresiranost za preuzimanje gospodarstva modelom izvan-

obiteljskog nasljeđivanja i dr. U ovom radu analizirana su dva bloka pitanja koja se odnose na stavove mladih o problemima vezanih uz nasljeđivanje poljoprivrednih gospodarstava u Hrvatskoj i upoznatost s modelom izvanobiteljskog nasljeđivanja. Većina pitanja uobličena je u izjave koje su mjerene skalom od četiri ocjene (1= uopće nije važno, 2 = nije važno, 3 = važno je i 4 = jako je važno).

Obrada podataka provedena je na razini deskriptivne analize (izračun frekvencija, postotaka, srednje vrijednosti, standardne devijacije) u programskom paketu SPSS 23.

## Rezultati i rasprava

**Sudionici** - U istraživanju je sudjelovala 141 osoba, od čega su dvije trećine bile ženskoga spola (Tablica 1). U uzorku su prevladavale osobe starosti od 18 do 24 godine, te je prosječna dob sudionika istraživanja bila 22,1 godina. Prema trenutnom profesionalnom statusu većina ispitanika su studenti ( $f=118$ ; 83,7 %) koji se obrazuju iz područja agronomije. Polovica anketiranih živi na selu, a nešto više od polovice mladih (56,7 %) potječe iz nepoljoprivrednih obitelji.

Tablica 1. Socijalno-demografska obilježja sudionika

Socio-demografsko obilježje		f	%
Spol:	Muškarci	52	36,9
	Žene	89	63,1
Dob:	18 - 24	115	82,1
	26- 40	26	17,9
Trenutni profesionalni status	Student/ca	118	83,7
	Poljoprivrednik/nepoljoprivrednik	21	16,3
Tip obitelji iz koje dolazi:	Poljoprivredna obitelj	61	43,3
	Nepoljoprivredna obitelj	80	56,7
Mjesto stanovanja:	Urbano područje (grad)	70	49,6
	Ruralno područje (selo)	71	50,4

**Percepcija uzroka/izazova za reprodukciji OPG-a** - Dosadašnja istraživanja u Hrvatskoj pokazuju da se poljoprivreda poglavito smatra „zatvorenom profesijom” (Žutinić i Grgić, 2010.), što znači da se reprodukcija OPG-a zbiva unutar obitelji kao samobnavljajuća profesija - potomci nasljeđuju poljoprivredno zemljište ili gospodarstvo i nastavljaju obiteljsku tradiciju bavljenja poljoprivredom. Recentno istraživanje Chiswell i Lobley (2018.) pokazalo je da djeca poljoprivrednika nisu više pod pritiskom kolektivnog (obiteljskog) odlučivanja o nasljedniku, sve više uspoređuju poljoprivredu s nepoljoprivrednim zanimanjima i individualno odlučuju o (ne)bavljenju poljoprivredom u budućnosti, što međugeneracijski prijenos poljoprivrednog gospodarstva čini ranjivim.

Sudionici ovoga istraživanja također su mišljenja da u Hrvatskoj postoji problem sužene reprodukcije OPG-a ( $f=100$ ; 79,5 %). Pri tome smatraju da je glavni uzrok tome općenito slabi interes mladih da se bave poljoprivredom ( $M=3,44$ ), kao i nezainteresiranost djece poljoprivrednika da nastave obiteljski posao ( $M=3,44$ ). Nadalje, velikim izazovom u rješavanju socijalne reprodukcije OPG-a smatraju problem napuštenih gospodarstava ( $M=3,40$ ) i otežan zakup i nedostupnost poljoprivrednog zemljišta mladim osobama koji se kane baviti poljoprivrednom djelatnošću ( $M=3,29$ ;  $M=3,17$ ).

Tablica 2. Percepcija uzroka i izazova za reprodukciju i održivost OPG-a\*

Uzroci	1+2 (%)	3 +4 (%)	M	SD
Poljoprivrednici bez djece	30,0	70,0	2,89	0,803
Nezainteresiranost djece poljoprivrednika da se bave poljoprivredom	5,0	95,0	3,44	0,625
Nezainteresiranost mladih za poljoprivredu	8,0	92,0	3,44	0,638
<b>Izazovi</b>				
Postojeći Zakon o nasljeđivanju	22,0	78,0	3,01	0,703
Nedostupnost poljoprivrednog zemljišta mladima	11,0	89,0	3,17	0,726
Otežan zakup poljoprivrednog zemljišta	6,0	94,0	3,29	0,611
Napuštena gospodarstva	9,1	90,9	3,40	0,656

\*N = 100, min = 1, max = 4; 1 - uopće nije važno, 2 - nije važno, 3 - važno je, 4 - jako je važno, M-srednja vrijednost ili *mean*, SD-standardna devijacija

Kao moguća rješenja problema nasljeđivanja OPG-a, ispitanici vide prvenstveno u edukaciji mladih o važnosti poljoprivrede za hrvatsko gospodarstvo i razvoj sela (f=82), potom u edukaciji poljoprivrednika o važnosti planiranja nasljeđivanja gospodarstva (f= 59), razvoju sustava za olakšavanje procesa nasljeđivanja (f=48), osnaživanju aktivnosti savjetodavne službe o pitanjima nasljeđivanja gospodarstva (f=44), promjeni zakona o nasljeđivanju (f=38) i davanju veće medijske pozornosti tom pitanju (f=37).

**Preferiranje modela izvanobiteljske sukcesije** - Većina mladih u uzorku (f=104; 73,8 %) izrazilo je želju da se u budućnosti profesionalno bavi poljoprivredom, a dvije trećine (f=93; 66,0 %) htjelo bi imati vlastito poljoprivredno gospodarstvo. Iako je prethodna analiza pokazala da mladi percipiraju problem nasljeđivanja OPG-a u Hrvatskoj, na anketno pitanje o upoznatosti s modelom izvanobiteljske sukcesije svega 14,2 % je potvrdno odgovorilo. To potvrđuju i njihovi odgovori na hipotetičko pitanje koje opcije stjecanja poljoprivrednog gospodarstva bi im bile prihvatljive (Tablica 3). Nešto više od trećine ispitanika odredilo se za možebitno nasljeđivanje gospodarstva od osobe koja nije član obitelji, dok oko petina njih (f=34, 24,1 %) bi prihvatilo gospodarstvo u zamjenu za brigu o starijem poljoprivredniku. Ipak, mladi su najviše skloni (86,5 %) tradicionalnom obrascu – unutarobiteljskoj sukcesiji poljoprivrednog gospodarstva.

Na ponuđene odgovore o mogućem zajedničkom životu u kućanstvu sa starijim poljoprivrednikom kad bi došlo do sukcesije, većina mladih se opredjelila za odvojeno kućanstvo, a svega 9,9 % zajednički suživot vidi kao moguću opciju.

Tablica 3. Koje opcije stjecanja gospodarstva bi bile za vas prihvatljive?

Modaliteti odgovora*	1+2 (%)	3+4 (%)	M	SD
Nasljeđivanje gospodarstva od osobe u mojoj obitelji	13,5	86,5	3,34	0,901
Nasljeđivanje gospodarstva od osobe izvan moje obitelji	63,8	36,2	2,16	0,923
Dobiti gospodarstvo u zamjenu za cjeloživotnu brigu o osobi od koje dobivate gospodarstvo	75,9	24,1	1,84	0,920
Kupiti gospodarstvo	56,4	43,6	2,30	1,101
Zakup gospodarstva	72,7	27,3	1,94	0,918

\*1 - ne bih odabrao/la, 2 - mala je mogućnost da to odaberem, 3 - moguće je da bih to odabrao/la, 4 - sigurno bi to odabrao/la, M-srednja vrijednost ili *mean*, SD-standardna devijacija

## Zaključak

Europska unija svojim politikama godinama pokušava naći načine izravnog povezivanja starijih poljoprivrednika bez nasljednika i mladih koji se žele baviti poljoprivredom kroz model izvanobiteljske sukcesije.

Anketno istraživanje na prigodnom uzorku pokazalo je da mladi smatraju da u hrvatskoj poljoprivredi postoji problem sužene socio-demografske reprodukcije OPG-a. Najveći uzrok tome vide općenito u nezainteresiranosti mlade populacije za poljoprivredom, ali i u potomstvu poljoprivrednika koje odabire nepoljoprivredna zanimanja. Analiza je pokazala da većina sudionika u istraživanju ( $f=85,8$  %) nije upoznata s modelom izvanobiteljskog nasljeđivanja poljoprivrednog gospodarstva, međutim kod trećine njih postoji mogućnost ili su sigurni da bi odabrali taj model za stjecanje vlastitog gospodarstva.

Potrebna su šira istraživanja među mladima i starijim poljoprivrednicima da bi se utvrdili kakvi su potencijali za primjenu modela izvanobiteljske sukcesije poljoprivrednih gospodarstava u Hrvatskoj.

## Literatura

- Access to Land (2018). Europe's new farmers Innovative ways to enter farming and access land, Report, The European Access to Land network, Raspoloživo: <https://accesstoland.eu>
- Berthollet M. et al. (2016). Farm succession - Tools and methods to promote a successful farm succession. Raspoloživo: <https://farmtable.com.au/build/farm-succession-tools-and-methods-to-promote-a-successful-farm-succession/>
- Cassidy A. (2019). Female successors in Irish family farming: four pathways to farm transfer. *Canadian Journal of Development Studies*. 40 (2): 238-253.
- Chiswell H.M., Lobley M. (2018). "It's Definitely a Good Time to Be a Farmer": Understanding the Changing Dynamics of Successor Creation in Late Modern Society. *Rural Sociology*. 83 (3): 630-653.
- Ilbery B., Ingram J., Kirwan J., Maye D., Prince N. (2012). Non-successional entry into UK farming: An examination of two government-supported schemes. In book: *Keeping it in the Family: International Perspectives on Succession and Retirement on Family Farms*. Editors: M. Lobley, J. Baker and I. Whitehead, Ashgate, Farnham, UK.
- Korzenszky A. (2019). Extrafamilial farm succession: an adaptive strategy contributing to the renewal of peasantries in Austria. *Canadian Journal of Development Studies*. 40 (2): 291-308.
- Lobley M., Baker J., Whitehead I. (2010). Farm Succession and Retirement: Some International Comparisons. *Journal of Agriculture, Food System and Community Development*. 1 (1): 49-64.
- McKee A. et al. (2018). Increasing the Availability of Farmland for New Entrants to Agriculture in Scotland. Final report to the Scottish Land Commission.
- Zagata L., Sutherland L. A. (2015). Deconstructing the 'young farmer problem in Europe': Towards a research agenda. *Journal of Rural Studies*. 38: 39-51.
- Žutinić Đ., Grgić I. (2010). Family Farm Inheritance in Slavonia Region, Croatia. *Agric. Econ. - Czech*. (11): 522-531.

## **Extrafamilial farm succession from the point of view of young people**

### **Abstract**

The paper is based on the results of an empirical study conducted in 2020 on a sample of young people aged from 18 to 40 years. The aim of the paper was to determine the attitudes of youth towards some problems of family farms inheritance and their's familiarity with the model of extrafamilial farm succession. Data were collected through an online survey and the sample included 141 respondents. The results show that the most young people perceive the problem of narrow reproduction of family farms in Croatia, and consider the main cause in the low interest of youth to engage in agriculture. Only 14.2 % of respondents are familiar with the out-of-family succession model. Although young people are most prone to the traditional pattern of farm inheritance, more than a third (36.2 %) would choose the model of extrafamilial farm succession.

**Key words:** extrafamilial farm transmission, family farm, young farmers, youth



## Utjecaj pandemije COVID-19 na tržište hrane

Ružica Lončarić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (rloncaric@fazos.hr)*

### Sažetak

Cilj rada je doprinijeti znanju o utjecaju pandemije koronavirusa na ponašanje i promjene na tržište hrane te procijeniti razinu otpornosti poljoprivredno-prehrambenog sektora na pandemiju koronavirusa, analizirajući njezin učinak na cijene roba i usredotočujući se na lanac opskrbe i vrijednosti. Rad predstavlja pregled literaturnih podataka vezan za temu utjecaja pandemije koronavirusa na tržište hrane, odnosno prehrambeni lanac. Promatrajući kretanje FAO indeksa cijena hrane (ICH) od 2015. do 2020. godine, može se konstatirati da prosječni ICH u prosjeku blago raste u 2020. (5,3 %) u usporedbi s 2015. godinom. Kod svih robnih grupa manje-više primijećene su oscilacije, a porast indeksa cijena odnosi se na mliječne proizvode, biljna ulja i žitarice, dok je kod mesa i šećera zamijećen pad. Ako pobliže analiziramo kretanje ICH i grupa roba u razdoblju od ožujka 2020. do ožujka 2021. može se konstatirati porast prosječnog ICH i svih pojedinačnih grupa proizvoda. Porast je najznačajniji kod biljnih ulja i šećera. Promet otkupljenih i prodanih poljoprivrednih proizvoda u Hrvatskoj od 2018. do 2020. godine lagano je porastao u 2020. u odnosu na prethodnu, nepandemijsku godinu. Za razliku od drugih sektora, prehrambeni sektor, kao dio nacionalne kritične infrastrukture, ostao je operativan u cijelom opskrbnom lancu za vrijeme pandemije. Pošto ova kriza vjerojatno neće ostati jednokratna, daljnji istraživački napor treba usmjeriti na promišljanje njegovih dugoročnih utjecaja, poput negativnih posljedica na sigurnost radnih mjesta, opskrbne lance i globalizaciju.

**Ključne riječi:** tržište hrane, COVID-19, indeks cijena hrane, otkup, Republika Hrvatska

### Uvod

Širenje COVID-19 nije samo dovelo do mnogih smrtnih slučajeva već i do društvenog i ekonomskog pada na globalnoj razini (Deaton i Deaton, 2020., Galanakis, 2020.). Pandemija koronavirusa izazvala je stanje panike u cijelom svijetu, preispitujući sigurnost hrane, poljoprivredu i prehrambene sustave. Za razliku od drugih sektora koji su se u većoj mjeri morali zatvoriti zbog vladinih restriktivnih mjera, prehrambeni sektor, kao dio nacionalne kritične infrastrukture, ostao je operativan u cijelom opskrbnom lancu kako bi prehranio ljude. Sektor poljoprivredno-prehrambenih proizvoda pogođen je novim izazovima uslijed pandemije koronavirusa i to od poteškoća u lancu opskrbe do zadovoljavanja velike potražnje na tržištu, zaštite radne snage, istodobno izbjegavajući poremećaje i gubitke u prometnoj mreži te zadržavajući visoku razinu sigurnosti hrane i povjerenja potrošača (Hailu, 2020., McEwan i sur., 2020., Nakat i Bou-Mitri, 2021., Weersink, 2020.).

Prije pandemije COVID-19, globalni prehrambeni sustavi bili su opterećeni međusobno povezanom krizom pretilosti (Swinburn, 2019.), pothranjenosti, siromaštva (FAO i sur., 2019.), klimatskih promjena (IPCC, 2019.), degradacije ekosustava i gubitka biološke raznolikosti (Hayhow i sur., 2019.). Poveznice između intenzivnih industrijskih prehrambenih sustava, lošeg zdravlja, štete u okolišu i nepravde u prehrambenom lancu (Frison i Clément, 2020.) otkrivaju hitnu potrebu za održivim, pravednim prehrambenim sustavima. Dugotrajno djelovanje stresnih faktora na globalnoj su razini ugrozili otpornost

prehrambenih sustava, čineći ih ranjivima na kratkoročne šokove poput COVID-19. Pandemija ističe višestruke ranjivosti u prehrambenim sustavima, uključujući dominaciju malog broja trgovaca i proizvođača, oslanjanje na pravovremene opskrbne lance i ovisnost o uvezenoj hrani i radnoj snazi (Garnett i sur., 2020.).

Proizvođači, potrošači i organizacije u lokalnim zajednicama pokazali su znatnu predanost i sposobnost da opskrba hranom teče nesmetano (Sanderson Bellamy i sur., 2021.). Međutim, to nije uvijek osiguravalo da održiva, zdrava hrana bude dostupna svima ili da su oni koji proizvode hranu prikladno nagrađeni ili pošteno tretirani. Razvijena su rješenja za hitno reagiranje koja su iskoristila prilike koje je otvorila kriza u smislu oblikovanja inovacija i demonstraciju potencijalnih puteva za transformaciju prehrambenog sustava.

Cilj rada je pomoću literaturnog pregleda doprinijeti znanju o utjecaju pandemije koronavirusa na ponašanje i promjene na tržište hrane i prehrambeni lanac te procijeniti razinu otpornosti poljoprivredno-prehrambenog sektora na pandemiju koronavirusa, analizirajući njezin učinak na cijene roba i usredotočujući se na lanac opskrbe i vrijednosti.

### **Materijal i metode**

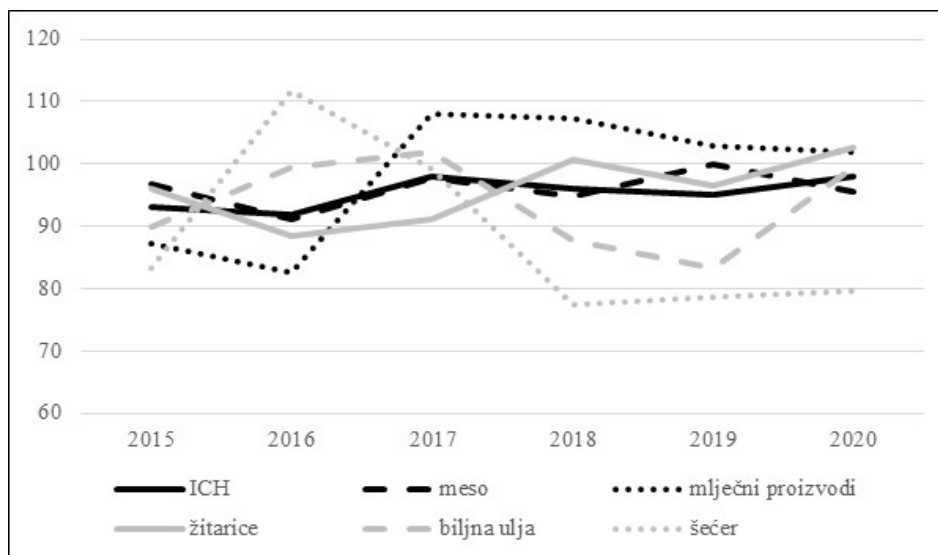
Rad predstavlja pregled literaturnih podataka vezan za temu utjecaja pandemije koronavirusa na tržište hrane, odnosno prehrambeni lanac. U radu su korišteni podaci FAOSTAT-a koji su pratili kretanje indeksa cijena hrane od početka pandemije. Kretanje ICH indeksa hrane u radu je prikazano za razdoblje 2015. - 2020., a prema metodologiji FAO, ICH se sastoji od 5 indeksa cijena robnih grupa (žitarice, biljna ulja, mliječni proizvodi, meso i šećer) ponderiranih prosječnim udjelima svake od grupa za razdoblje 2014. - 2016. U indeks je ukupno uključeno 95 cijena, za koje FAO specijalisti smatraju da predstavljaju međunarodne cijene prehrambenih proizvoda. Nadalje, korišteni su podaci Državnog zavoda za statistiku za prikaz usporedbe prodaje i otkupa poljoprivrednih proizvoda od 2018. - 2020. godine kako bi se usporedio promet hrane prije i za vrijeme pandemije.

Korištena je metoda strukturne i kronološke analize promatranih podataka, dok su dobiveni podaci kombinirani metodom sinteze.

### **Rezultati i rasprava**

Različite pandemije koje je čovječanstvo doživjelo, poput španjolske gripe, azijske gripe, hongkonške gripe, HIV/AIDS-a, SARS-a, ebole i svinjske gripe, imale su velik utjecaj na gospodarstvo, okoliš i brojne ljudske aktivnosti, poput stočarstva, poljoprivrede, turizma, prometa, obrazovanja, zdravstva, ribarstva, rudarstva, industrije, trgovine itd. Trenutno se čovječanstvo suočava s još jednom pandemijom, infekcijom novog koronavirusa (2019-nCoV) koja generira bolest poznatu kao COVID-19 (Siche, 2020.). Uvođenje lock-downa u mnogim zemljama svijeta sa svrhom usporavanja širenja bolesti, uzrokovalo je poremećaje u gospodarskim aktivnostima i nagle promjene politika kako bi se ublažili utjecaji pandemije na zdravlje (Ayittey i sur., 2020., Chatterjee i sur., 2020., Singh i sur., 2020.). Prema istraživanju Singh i sur. (2021.), u Indiji je lock-down utjecao na nedostatak radne snage migranata u nekim regijama i višak radnika u drugim što je uvelike utjecalo na poljoprivredne radove, a to je dovelo do pada poljoprivrednih plaća u nekim zajednicama i povećanja u drugim, kao i do kritičnih gubitaka proizvoda. Što se tiče tržišta, uslijed smanjenog broja veletrgovaca, prodaja poljoprivrednih proizvoda se smanjila, što je demotiviralo poljoprivredne proizvođače. S druge strane, njihovi prihodi, a posredno i prihodi trgovaca, istodobno su se povećali zbog viših cijena proizvoda uzrokovanih nedostatkom proizvoda na tržištu. Cijene većine sezonskog povrća porasle su za čak do 50 %.

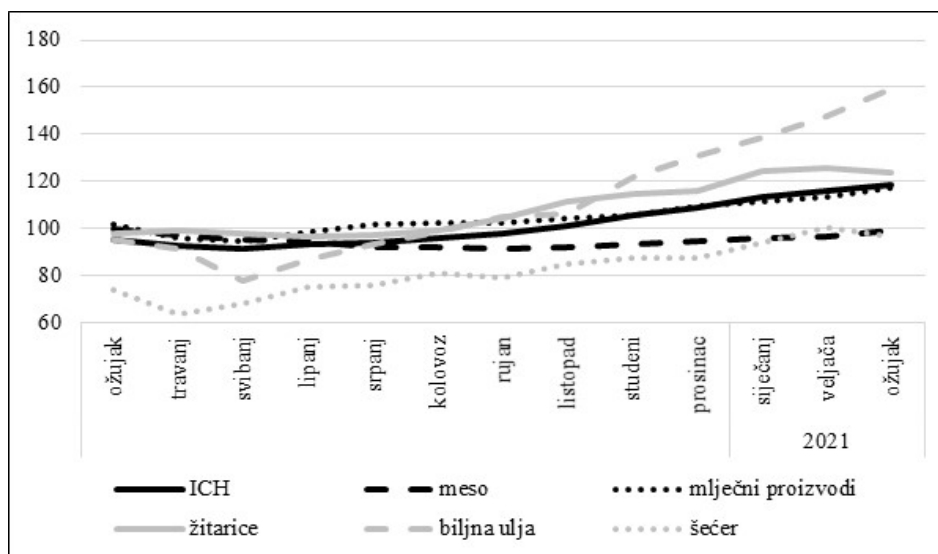
Promatrajući kretanje FAO indeksa cijena hrane (ICH) prikazano na Grafikonu 1, može se konstatirati da prosječni ICH u prosjeku blago raste (5,3 %) u usporedbi s 2015. godinom. Za sada nominalni indeks za 2021. iznosi 115,3 %, što je značajan porast u odnosu na 2020. i ukazuje na ozbiljne poremećaje na svjetskom tržištu hrane. Gledajući pojedine robne grupe, kod svih su manje-više primijećene oscilacije, koje su dosta izražene u 2016. i 2017. godini (skok kod šećera, odnosno mliječnih proizvoda), te izraženi pad cijena šećera u razdoblju 2016. - 2018. Porast indeksa cijena odnosi se na mliječne proizvode, biljna ulja i žitarice (16,9, 10,4 i 7,1 %), dok je kod ostalih grupa zamijećen pad.



Grafikon 1. Kretanje FAO indeksa cijena hrane od 2015. - 2020. godine

Izvor: <http://www.fao.org/worldfoodsituation/foodpricesindex/en/>

Ako поближе analiziramo kretanje ICH i 5 grupa roba u razdoblju od ožujka 2020. do ožujka 2021. (Grafikon 2) može se konstatirati porast i prosječnog ICH i svih pojedinačnih grupa proizvoda. Porast je najznačajniji kod biljnih ulja i šećera. Postojanu snagu indeksa biljnih ulja potaknule su veće vrijednosti palminog i sojinog ulja, uljane repice i suncokretovih ulja.

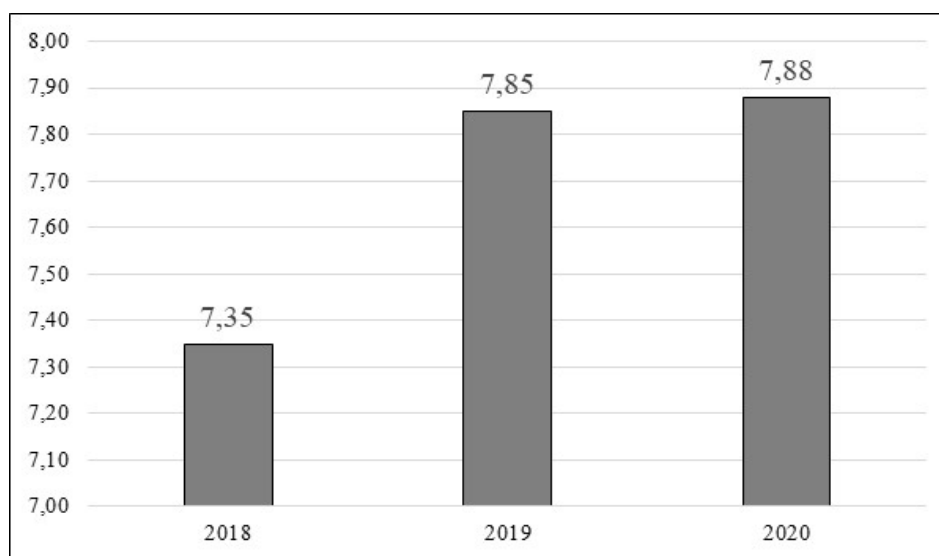


Grafikon 2. Kretanje FAO indeksa cijena pojedinih grupa hrane (%)

Izvor: <http://www.fao.org/worldfoodsituation/foodpricesindex/en/>

Međunarodne cijene palminog ulja zabilježile su dugotrajni mjesečni rast, a slična situacija je i kod sojinog ulja, a temeljena je na kontinuiranoj potražnji, posebno iz sektora biodizela. Indeksi cijena šećera više su od 30 % u odnosu na razinu od prije godinu dana, a potkrijepljene su zabrinutošću zbog gotovo kritične globalne opskrbe u periodu 2020./21. Nedavni mjesečni pad međunarodnih cijena šećera izazvan je očekivanjima velikog izvoza šećera iz Indije, unatoč postojećim logističkim ograničenjima.

Ako se uspoređi promet otkupljenih i prodanih poljoprivrednih proizvoda za 2018., 2019. i 2020. godinu, vidimo da je zabilježen lagani porast otkupa hrane u 2020. u odnosu na prethodnu (nepandemijsku) godinu, dok je razlika u odnosu na 2018. godinu još više vidljiva. Dakle, pandemija nije uzrokovala slabiji otkup i potražnju za hranom.



Grafikon 3. Vrijednost otkupljenih i prodanih poljoprivrednih proizvoda (2018.-2020.) u mld. kn

Izvor: <https://www.dzs.hr/>

Trendovi poljoprivredno-prehrambenih proizvoda ne slijede trendove ostalih maloprodajnih sektora (Coluccia i sur., 2021.). Autori su zaključili da je usporedbom podataka iz ožujka, travnja i svibnja 2020. s podacima iz prethodne godine, u Italiji došlo do općeg smanjenja prodaje neprehrambene robe za oko 36 % vrijednosti, dok je prodaja prehrambene robe pokazala pozitivne razlike (4 %).

### Zaključak

Pandemija je potaknula lance opskrbe poljoprivredno-prehrambenim proizvodima da preispitaju prijetnje i mogućnosti te prioritete i prilagode svoje sustave. Ova kriza vjerojatno neće ostati jednokratna. Iz tog razloga daljnji istraživački naponi trebali bi biti usmjereni na promišljanje njegovih dugoročnih utjecaja, poput negativnih posljedica na sigurnost radnih mjesta, opskrbe lance i globalizaciju. Hrvatska bi svakako trebala povećati proizvodnju hrane, ali i biti više uključena u međunarodnu slobodnu trgovinu kako bi ojačala globalnu sigurnost i diverzifikaciju opskrbenih lanaca, te utjecala na vlastite i globalne probleme ekonomskog oporavka, klimatskih promjena, onečišćenja okoliša, gubitka bioraznolikosti i COVID-19 pandemije.

## Literatura

- Ayittey F.K., Ayittey M.K., Chiwero N.B., Kamasah J.S., Dzuovor C. (2020). Economic impacts of Wuhan 2019-nCoV on China and the world. *Jornal of Medical Virology*. 20: 473-475.
- Chatterjee P., Nagi N., Agarwal A., Das B., Banerjee S., Sarkar S., Gupta N., Gangakhedkar R.R. (2020). The 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) pandemic: a review of the current evidence. *Indian J. Med. Res.* 151 (2-3): 147-159.
- Coluccia B., Agnusdei G.P., Miglietta P.P., De Leo F. (2021). Effects of COVID-19 on the Italian agri-food supply and value chains. *Food Control*. 23: 1-12.
- Deaton B.J., Deaton B.J. (2020). Food security and Canada's agricultural system challenged by COVID-19. *Canadian Journal of Agricultural Economics/Revue canadienne d'agroéconomie*. 68: 143-149.
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP, WHO (2019). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2019. Safeguarding against economic slowdowns and downturns*. Rome: FAO.
- Frison E., Clément C. (2020). The potential of diversified agroecological systems to deliver healthy outcomes: Making the link between agriculture, food systems & health. *Food Policy*. 96.
- Galanakis C.M. (2020). The food systems in the era of the coronavirus (COVID-19) pandemic crisis. *Foods*. 9 (4): 523.
- Garnett P., Doherty B., Heron T. (2020). Vulnerability of the United Kingdom's food supply chains exposed by COVID-19. *Nat Food*. 1: 315-318.
- Hailu G. (2020). Economic thoughts on COVID-19 for Canadian food processors. *Canadian Journal of Agricultural Economics/Revue canadienne d'agroéconomie*. 68: 163-169.
- Hayhow D., Eaton M.A., Stanbury A.J., Burns F., Kirby W.B. Bailey N., Beckmann B., Bedford J. (2019). *State of Nature 2019. The State of Nature Partnership*.  
<https://www.dzs.hr/>  
<http://www.fao.org/worldfoodsituation/foodpricesindex/en/>
- IPCC (2019). *Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems*. Edited by P.R. Shukla, J. Skea, E. Calvo Buendía, V. Masson-Delmotte, H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, P. Zhai, R. Slade.
- McEwan K., Marchand L., Shang M., Bucknell D. (2020). Potential implications of COVID-19 on the Canadian pork industry. *Canadian Journal of Agricultural Economics/Revue canadienne d'agroéconomie*. 68: 201-206.
- Nakat Z., Bou-Mitri C. (2021). COVID-19 and the food industry: Readiness assessment. *Food Control*. 121.
- Sanderson Bellamy A., Furness E., Nicol P., Pitt H., Tahezadek A. (2021). Shaping more resilient and just food systems: Lessons from the COVID-19 Pandemic. *Ambio*. 50: 782-793.
- Siche R. (2020). What is the impact of COVID-19 disease on agriculture? *Scientia Agropecuaria*. 11 (1): 3-6.
- Singh R.K., Rani M., Bhagavathula A.S., Sah R., Rodriguez-Morales A.J., Kalita H., Nanda C., Patairiya S., Sharma Y.D., Rabaan A.A., Rahmani J., Kumar P. (2020). The prediction of COVID-19 pandemic for top-15 affected countries using advance ARIMA model. *JMIR Pub. Heal. Surveill.* 6: 1-10.
- Singh R.K., Kumar M., Biswas J.K., Drews M. (2021). Multi-level impacts of the COVID-19 lockdown on agricultural systems in India: The case of Uttar Pradesh. *Agricultural systems*. 187: 1-10.
- Swinburn B. (2019). Power Dynamics in 21st-Century Food Systems. *Nutrients* 2019. 11 (10): 2544.
- Weersink A., Von Massow M., McDougall B. (2020). Economic thoughts on the potential implications of COVID-19 on the Canadian dairy and poultry sectors. *Canadian Journal of Agricultural Economics/Revue canadienne d'agroéconomie*. 68: 195-200.

## **Impact of the COVID-19 pandemic on the food market**

### **Abstract**

The aim of this paper is to contribute knowledge about the impact of the coronavirus pandemic on behavior and changes in the food market and to assess the level of resilience of the agri-food sector to the coronavirus pandemic, analyzing its impact on commodity prices and focusing on supply chain and values. The paper presents an overview of literature data related to the topic of the impact of the coronavirus pandemic on the food market, ie the food chain. Analyzing FAO Food Price Index (ICH) from 2015 to 2020, the average ICH is growing slightly on average in 2020 (5.3 %) compared to 2015. Looking at individual commodity groups, more or less oscillations were observed in all of them, and the increase in the price index refers to dairy products, vegetable oils and cereals, while a decrease was observed in meat and sugar. If we analyze more closely the movement of ICH and commodity groups in the period from March 2020 to March 2021, we can see an increase in the ICH average and all individual commodity groups. The increase is most significant in vegetable oils and sugars. The trade of purchased and sold agricultural products in Croatia from 2018 to 2020 slightly increased in 2020 compared to the previous (non-pandemic) year. Unlike other sectors, the food sector, as part of the national critical infrastructure, remained operational throughout the supply chain during the pandemic. As this crisis is unlikely to remain a one-off, further research efforts should focus on considering its long-term impacts, such as negative impacts on job security, supply chains and globalization.

**Key words:** food market, COVID-19, food price index, purchase, Republic of Croatia

## Mišljenje studenata o utjecaju turizma na komponente održivog razvoja

Željka Mesić<sup>1</sup>, Barbara Cvek<sup>2</sup>, Marija Cerjak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za marketing u poljoprivredi, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska (zmesic@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska - studentica MS studija Ekološka poljoprivreda i agroturizam*

### Sažetak

Cilj rada je utvrditi upoznatost studenata s konceptom održivog turizma te ispitati njihovo mišljenje o utjecaju turizma na komponente održivog razvoja. Provedeno je anketno ispitivanje na uzorku od 181 ispitanika, studenata Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Visok udio studenata upoznat je s pojmom održivog turizma pri čemu studenti na višim godinama studija te oni koji su odslušali kolegije o održivom razvoju i zaštiti okoliša imaju viši stupanj znanja o održivom turizmu. Studenti su mišljenja da turizam najviše utječe na ekonomsku i okolišnu, a najmanje na društvenu komponentu održivog razvoja. S obzirom da visok udio studenata pokazuje interes za edukacijom u ovom području, nastavnici bi trebali uključiti u svoje nastavne programe dodatne teme iz područja održivog razvoja i specifično održivog turizma te organizirati različite oblike dodatne edukacije poput radionica i projektnih zadataka.

**Ključne riječi:** studenti agronomije, anketa, mišljenje, održivi turizam

### Uvod

Turizam je u Hrvatskoj jedna od najvažnijih gospodarskih grana. Prema podacima Eurostata, Hrvatska se po ukupnom doprinosu turizma BDP-u nalazi na 4. mjestu u EU, pri čemu je udio turizma u BDP-u u 2018. iznosio visokih 19,8 %. Masovni turizam uzrokuje velike prijetnje i opasnosti za očuvanje okoliša, prirodnih ljepota i atrakcija Hrvatske (Hitrec, 2002.). Zbog toga je važno što prije turističku ponudu usmjeriti ka održivom turizmu s ciljem stvaranja konkurentne prednosti na globalnom tržištu.

Ideja održivog razvoja turizma pojavila se u posljednjih nekoliko desetljeća kao potreba da se osigura učinkovit turistički sektor temeljen na tri glavne komponente održivog razvoja, a to su zaštita okoliša, ekonomija, društvo i kultura (Mansfeld i Jonas, 2006.). Održivi turizam definira se kao turizam koji u potpunosti uzima u obzir trenutne i buduće gospodarske, društvene i okolišne učinke te se brine o potrebama posjetitelja, sektora, okoliša i destinacije (United Nations Environment Programme i United Nations World Tourism Organization, 2005.). To je turizam koji koristi i prirodnu i kulturnu baštinu s ciljem privlačenja i povećanja broja posjetitelja, ali s time da ona bude očuvana za buduće generacije (Dibra i Oelfke, 2013., Bačun i sur., 2012.).

Kako bi se smanjio negativni utjecaj turizma na okoliš te kako bi se što više kretalo prema održivijoj budućnosti, ključno je usvojiti pro-ekološko ponašanje. Veliku ulogu u promociji održivog ponašanja imaju institucije visokog obrazovanja u smislu osposobljavanja budućih stručnjaka koji će djelovati u korist održivog razvoja, dio kojeg je i održivi turizam (Junyent, 2007.). Prema UNESCO (2009.) institucije visokog obrazovanja su glavni pokretači promjena vezanih uz održivi razvoj. Obrazovanje doprinosi većoj svjesnosti, informiranosti, poznavanju i razumijevanju određenog problema te na taj način utječe na stavove (Dibra i

Oelfke, 2013.). Isti autori navode da će studenti koji su informiraniji o održivom razvoju bolje razumijeti njegov koncept te ga uspješnije i promicati. Rezultati prijašnjih studija pokazuju da studenti imaju izrazito pozitivne stavove kako o održivom razvoju tako i o održivom turizmu (Sahin i Erkal, 2017., Dibra i Oelfke, 2013., Sahin i sur., 2009.). Ipak, Sahin i sur. (2009.) ukazuju da unatoč pozitivnim stavovima prema održivom razvoju i ekološkim vrijednostima studenti često nisu spremni poduzeti radikalne aktivnosti kako bi se stvorila održivija budućnost. Kao glavnu prepreku boljem poznavanju i aktivnijem djelovanju studenti navode manjak predmeta tijekom studiranja o zaštiti okoliša i održivom razvoju (Sahin i Erkal, 2017.).

Unatoč sve većem interesu za održivim turizmom, ovo je prvo istraživanje u Hrvatskoj na populaciji studenata koje ima za cilj utvrditi upoznatost studenata s konceptom održivog turizma te utvrditi njihovo mišljenje o utjecaju turizma na komponente održivog razvoja.

### **Materijal i metode**

Anketno istraživanje provedeno je na uzorku od 181 studenta preddiplomskih i diplomskih studija Agronomskog fakulteta u Zagrebu (od toga on line  $n = 140$  studenata, osobno ispitivanje  $n = 41$ ). Istraživanje je provedeno u razdoblju od 17. prosinca 2018. do 13. svibnja 2019. Anketnim upitnikom obuhvaćena su pitanja o upoznatosti studenata s održivim turizmom te njihova percepcija utjecaja turizma na komponente održivog razvoja. Percepcija studenata o utjecaju turizma na okoliš, ekonomiju, društvo i kulturu mjerena je na ljestvici od 5 stupnjeva (1 = uopće se ne slažem, 5 = potpuno se slažem), a izjave su preuzete iz literature (Muresan i sur., 2016.; Dibra i Oelfke, 2013.). Posljednja skupina pitanja u anketi odnosila se na sociodemografska obilježja. Podaci su analizirani pomoću jednovarijantne i dvovarijantne (hi kvadrat test, ANOVA) analize u statističkom programskom paketu SPSS 21. U istraživanju je sudjelovalo 75 % ženskih i 25 % muških studenata. Najviše ispitanika je u dobi od 22 do 24 godine (43,6 %) te u dobi od 18 do 21 godinu (36,5 %). Više od 24 godine ima 19,9 % ispitanika. U istraživanju je sudjelovao jednak udio studenata treće i četvrte godine studija (26,5 %), a najmanje njih bilo je s prve i pete godine studija (8,3 %). 18,8 % studenata je na drugoj godini studija te 11,6 % su apsolvanti. Većina studenata odrasla je u gradu (66 %). Visok postotak studenta (93 %) nije član niti jedne udruge ili organizacije koja se bave pitanjem zaštite okoliša, dok njih 7 % jesu.

### **Rezultati i rasprava**

Prema subjektivnoj ocjeni, skoro polovica studenata (45 %) točno zna što je održivi turizam, njih 44 % izjasnilo se da to znaju, ali nisu sigurni u točnu definiciju. Manji udio studenta (11 %) ne zna što je održivi turizam. Slični rezultati dobiveni su u istraživanju koje su proveli Sahin i sur. (2009.) u Turskoj sa studentima s Middle East Technical University (METU) o poznavanju pojma održivog razvoja. Većina studenata navedenog Sveučilišta upoznata je s tim pojmom te ima pozitivan stav prema održivom razvoju i ekološkim vrijednostima.

Visok udio studenata Agronomskog fakulteta u Zagrebu (71 %) je tijekom studija odslušao neki predmet o održivom razvoju i zaštiti okoliša, dok je 29 % odgovorilo da nisu imali nikakvo obrazovanje o tim temama. Rezultati  $\chi^2$  testa pokazali su da su studenti koji su odslušali kolegije o održivom razvoju i zaštiti okoliša više upoznati s pojmom održivog turizma ( $p < 0,05$ ). Također, utvrđeno je da je na višim godinama studija značajno više studenata koji točno znaju što je održivi turizam u odnosu na studente na nižim godinama ( $p < 0,05$ ). Time su potvrđeni rezultati prijašnjih istraživanja o utjecaju obrazovanja na bolje poznavanje i razumijevanje određenog problema, u ovom slučaju održivog turizma (Dibra i Oelfke, 2013., Sahin i sur., 2009.). S obzirom na mišljenje studenata o utjecaju turizma na



tri komponente održivog razvoja, studenti su mišljenja da turizam najviše utječe na ekonomiju (srednja ocjena 3,86) i okoliš (srednja ocjena 3,77), a najmanje na društvo i kulturu (srednja ocjena 3,65). Dobiveni rezultati su u skladu s istraživanjem provedenim u Albaniji u kojem studenti također ocjenjuju da turizam donosi najviše ekonomskih koristi, i to najviše u vidu zapošljavanja lokalnog stanovništva te poboljšanja lokalne infrastrukture (Dibra i Oelfke, 2013.). Rezultati su potvrđeni i ANOVA testom kojim je utvrđeno da studenti Agronomskog fakulteta u Zagrebu statistički značajno više vrednuju ekonomsku i okolišnu komponentu u odnosu na društvenu komponentu održivog razvoja ( $p < 0,05$ ). (Tablica 1).

Tablica 1. Percepcija studenata o utjecaju turizma na komponente održivog razvoja

Utjecaj turizma na okoliš	Srednja vrijednost	SD
Turizam rezultira povećanjem količine otpada.	4,36	0,86
Povećava probleme u prometu (nesreće, gužve).	3,85	1,05
Razvoj turizma povećava onečišćenje zraka.	3,82	0,87
Izgradnja turističkih objekata dovodi do uništenja okoliša.	3,72	1,04
Turizam uzrokuje probleme prenapučenosti za lokano stanovništvo.	3,64	1,02
Razvoj turizma uništava prirodni okoliš i krajolik.	3,52	0,98
Turisti koriste previše vode.	3,51	1,08
<b>Ukupno</b>	<b>3,77</b>	<b>0,69</b>
<b>Utjecaj turizma na ekonomiju</b>		
Turizam ima važnu ulogu u ekonomskom razvoju područja.	4,45	0,62
Turizam stvara nova radna mjesta za lokalno stanovništvo.	4,42	0,65
Turizam poboljšava životni standard lokalnog stanovništva.	4,15	0,79
Turizam povećava prihod lokalnoj zajednici	4,03	0,82
Turizam rezultira povećanjem životnih troškova.**	3,72	0,84
<b>Ukupno**</b>	<b>3,86</b>	<b>0,429</b>
<b>Utjecaj turizma na društvo i kulturu</b>		
Interakcija s turistima je pozitivno iskustvo.	4,10	0,79
Zbog turizma raste ponos stanovnika za prirodno i povijesno-kulturno nasljeđe svoje zemlje.	3,96	0,97
Turizam podupire obnovu tradicijskih građevina/objekata.	3,90	0,92
Izbor restorana i dućana je bolji zbog turizma.	3,88	0,83
Razvoj turizma povećava mogućnosti rekreacije za mještane.	3,79	0,88
Organizirano je više edukativnih radionica zbog turizma.	3,55	1,02
Zbog turizma došlo je do povećanja kriminala na turističkim destinacijama.**	3,23	1,01
Radi turizma poboljšana je prometna mreža.	3,98	0,83
Radi turizma poboljšana je komunalna infrastruktura (struja, opskrba vodom, kanalizacija...).	3,62	0,97
Kvaliteta javne službe je bolja.	2,96	0,96
<b>Ukupno **</b>	<b>3,65</b>	<b>0,51</b>

\*1 – uopće se ne slažem, 5 – u potpunosti se slažem;\*\* - Izjava je obrnuto kodirana kod izračuna “Ukupno”

Pomoću ANOVA testa utvrdili smo da studenti s višim stupnjem znanja o održivom turizmu imaju pozitivnije mišljenje o utjecaju turizma na ekonomsku i društvenu komponentu održivog razvoja ( $p < 0,05$ ), dok nisu utvrđene razlike u mišljenju u odnosu na utjecaj turizma na okolišnu komponentu održivog razvoja ( $p > 0,05$ ). Gotovo svi ispitanici (95 %)

smatraju da bi trebalo organizirati više edukativnih radionica o održivom turizmu te više od polovice njih ih je spremno i pohađati (63 %). Upravo studenti s višim stupnjem znanja o održivom turizmu smatraju da treba organizirati više edukativnih radionica o održivom turizmu te su spremni i sudjelovati na njima ( $p < 0,05$ ).

### Zaključak

Istraživanjem je utvrđeno da je većina studenata upoznata s pojmom održivog turizma. Studenti na višim godinama studija te oni koji su odslušali kolegije o održivom razvoju i zaštiti okoliša imaju viši stupanj znanja o održivom turizmu što ukazuje na važnost daljnjeg obrazovanja na visokoškolskim institucijama o održivom razvoju i turizmu. Studenti su mišljenja da turizam najviše utječe na ekonomsku i okolišnu, a najmanje na društvenu komponentu održivog razvoja. S obzirom na važnost turizma za hrvatsko gospodarstvo ne iznenađuje rezultat da studenti visoko vrednuju utjecaj turizma na ekonomski razvoj i otvaranje novih radnih mjesta za lokalno stanovništvo. Iako visoko vrednuju učinak turizma na ekonomiju, studenti su itekako svjesni negativnih učinaka turizma na okoliš. S obzirom da visok udio studenata pokazuje interes za edukacijom u ovom području, nastavnici bi trebali uključiti u svoje nastavne programe dodatne teme iz područja održivog razvoja i specifično održivog turizma te organizirati različite oblike dodatne edukacije poput radionica i projektnih zadataka.

### Literatura

- Baćun D., Matešić M., Omazić M.A. (2012). Leksikon održivog razvoja. Zagreb: Hrvatski poslovni savjet za održivi razvoj.
- Dibra M., Oelfke T. (2013). Students' Perceptions and Attitudes toward Sustainable Tourism Development in Albania. *Mediterranean Journal of Social Sciences*. 10 (4): 706-714.
- Hitrec T. (2002). Održivi turizam i okoliš u žiži interesa Vijeća Europe. *Turizam*. 2: 457-459.
- Junyent M. (2007). Greening the Curriculum of Higher Education: Good Practices in Teacher Education Institutions. UNESCO Education Sector.
- Mansfeld Y., Jonas A. (2006). Evaluating the Socio-cultural Carrying Capacity of Rural Tourism Communities: A 'Value Stretch' Approach. *Tijdschrift voor economische en sociale geografie*. 97 (5): 583-601.
- Muresan J. C., Oroian C. F., Harun R., Arion F. H., Porutiu A., Chiciudean G. O., Todea A., Lile R. (2016). Local Residents' Attitude toward Sustainable Rural Tourism Development. *Sustainability*. 8 (1): 100.
- Sahin H., Erkal S. (2017). An Investigation of University Students' Attitudes toward Environmental Sustainability. *European Journal of Sustainable Development*. 6 (4): 147-154.
- Sahin E., Ertepinar H., Teksoz G. (2009). Implication for a Green Curriculum Application toward Sustainable Development. *H. U. Journal of Education*. 37: 123-135.
- United Nations Environment Programme and United Nations World Tourism Organization (2005). *Making Tourism More Sustainable: A Guide for Policy Makers*. Paris/Madrid: UNEP/UNWTO.

## **Students' opinions about the impact of tourism on the components of sustainable development**

### **Abstract**

This study aimed to identify the familiarity and opinions of students with the concept of sustainable tourism and to determine their opinion on the impact of tourism on the components of sustainable development. A survey was conducted on a sample of 181 respondents, students of the Faculty of Agriculture, University of Zagreb. A high proportion of students are familiar with the concept of sustainable tourism, while students in higher years of study and those who have attended courses on sustainable development and environmental protection have a higher level of knowledge about sustainable tourism. Students have the opinion that tourism has the greatest impact on the economic and environmental, and the least on the social component of sustainable development. Given the fact that a high proportion of students show interest in education in this area, teachers should include in their curriculum additional topics in the field of sustainable development and specifically sustainable tourism and organize various forms of additional education such as workshops and/or project assignments.

**Key words:** agronomy students, survey, opinion, sustainable tourism

## Čimbenici apsorpcije iz Europskih strukturnih i investicijskih fondova (ESIF) od 2014. do 2020. godine

Ornella Mikuš<sup>1</sup>, Mislav Klemenčić<sup>2</sup>, Mateja Jež Rogelj<sup>1</sup>, Lari Hadelan<sup>1</sup>, Tihana Sudarić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (omikus@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Georg consulting d.o.o., Pelješka 4, Zagreb, Hrvatska*

<sup>3</sup>*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska*

### Sažetak

Glavna svrha ESI fondova je pomoći zaostajućim regijama da putem investicijskih projekata potaknu proizvodnost i rast u regiji. Cilj ovog rada bio je opisati preraspodjelu proračuna EU putem ESI fondova u programskom razdoblju 2014. - 2020. te ustanoviti postoji li povezanost između apsorpcije sredstava, makroekonomskog stanja i digitalnog napretka (DESI) država EU. Rezultati su pokazali da se isplata sredstava najbrže provodila u Finskoj, Irskoj i Austriji, dok je najsporija zabilježena u Hrvatskoj, Španjolskoj i Rumunjskoj. Povezanost obrasca isplata s BDP-om po stanovniku i pokazateljem DESI ukazuje na zaključak da ti čimbenici imaju važnu ulogu u apsorpciji sredstava.

**Ključne riječi:** apsorpcija, EU proračun, ESI fondovi, makroekonomsko stanje, DESI

### Uvod

Kohezija i solidarnost među državama članicama su temeljne vrijednosti EU ustanovljene Ugovorom o funkcioniranju EU koji je stupio na snagu 1. siječnja 1958. (Batchler i Mendez, 2020.). Cilj kohezije je smanjiti regionalne razlike unutar EU u okviru kohezijske i Zajedničke poljoprivredne politike (ZPP). Instrumenti tih dviju zajedničkih politika su skupina fondova pod nazivom Europski strukturni i investicijski fondovi (ESIF). Skupinu čine: Europski fond za regionalni razvoj, Europski socijalni fond, Kohezijski fond, Europski poljoprivredni fond za ruralni razvoj i Europski fond za pomorstvo i ribarstvo. Glavna svrha ESI fondova je financijska potpora zaostajućim regijama kako bi putem investicijskih projekata potakli proizvodnost i rast u regiji, ulaganje u stvaranje radnih mjesta, održivo gospodarstvo i okoliš EU-a. ESI fondovi su uglavnom usmjereni na pet područja: 1) istraživanje i inovacije, 2) digitalne tehnologije, 3) potpora niskougljičnom gospodarstvu, 4) održivo upravljanje prirodnim resursima i 5) mala poduzeća.

Da bi država članica mogla koristiti fondove treba zadovoljiti određene preduvjete koji jamče da će sredstva biti učinkovito upotrijebljena. To znači da su političke odluke i strateški dokumenti kao podloga za korištenje ESIF-a u skladu sa standardima EU, te da regulatorni okvir potvrđuje da je provedba sufinanciranja u skladu s pravnom stečevinom EU. Također, institucionalni i administrativni kapaciteti moraju zadovoljavati potrebe primjene ESIF-a u praksi (Blauberger i Van Hüllen, 2020.). Osim toga, sposobnost efikasnog korištenja i mogućnost apsorpcije sredstava zemalja članica ovisi i o drugim elementima kao što je makroekonomska stabilnost, fiskalna i politička decentralizacija, obrazovna struktura, inovativnost i digitalizacija (Kersan-Škabić i Tijanić, 2017., Incaltarau i sur., 2020., Murzyn 2020.). Iako EU u osnovi teži poboljšanju digitalne ekonomije, u svrhu otvaranja većeg prostora i bolje zakonske regulative za digitalne poduzetnike i inovatore, postoji određeni politički otpor za provođenje reformi takvog tipa. Digitalna tehnologija je danas

predispozicija za postizanje konkurentnosti i pokazatelj je političke otvorenosti prema novim idejama i reformama. Također, sve više služi svrsi u ne-digitalnim sektorima i regijama, a politike koje uspostavljaju otvorena i predvidljiva pravila za digitalno gospodarstvo jačaju pozitivan ekonomski utjecaj digitalizacije (Erixon i Lamprecht, 2017.).

Programsko razdoblje (2014. - 2020.) je pri samom kraju i već su dobro vidljivi određeni obrasci alokacije sredstava na razini država članica. Stoga su ciljevi ovog rada: 1) utvrditi strukturu raspodjele proračuna EU putem ESI fondova u državama članicama i 2) ustanoviti postoji li povezanost iskorištenosti ESI fondova s gospodarskim stanjem i napretkom politika u digitalnoj tehnologiji.

### **Materijal i metode**

Za postizanje ciljeva rada korištena je analiza sadržaja sekundarnih izvora, koja se u velikoj mjeri temelji na statističkim platformama Europske komisije (EK) kao što su *European Structural and Investment Funds Data* (EK, 2020a.) *Eurostat, EU expenditure and revenue 2014 - 2020* (EK, 2019.), *Digital Economy and Society Index (DESI) 2020*. (EK, 2020b.). Korištena su izvješća institucija EU i znanstveno-stručni članci o iskorištavanju ESI fondova koji analiziraju određene obrasce i trendove alokacije.

Apsorpcijski kapaciteti ovise o nekoliko gore navedenih skupina čimbenika, a najčešće spominjani su ekonomsko okruženje i kvaliteta političko-institucijskog okvira. Stoga su isplaćena sredstva (zavisna varijabla) stavljena u korelaciju s pokazateljima BDP-a po stanovniku izraženim kao standard kupovne moći – SKM (stvarni izdaci po stanovniku za 2019.) i s indeksom digitalne ekonomije i društva za 2020. (DESI). Uzeto je u obzir da se prvo događa rast, pa onda razvoj te je zato za BDP uzeta zadnja dostupna 2019. godina, a za apsorpciju i DESI 2020. godina. Korelacija pokazuje postoji li povezanost između dviju pojava, u ovom slučaju između iskorištenih sredstava, snage gospodarstva i napretka koji su države članice EU ostvarile prema digitalnoj ekonomiji i društvu. Zbog usporedbe svih država članica, korištena valuta je euro, čiji šestogodišnji prosjek (2014. - 2019.) vrijednosti izražen u kunama iznosi 1 euro = 7,46 kuna (HNB, 2020.).

### **Raspodjela proračunskih sredstava EU**

Proračunski prihodi EU proizlaze iz pet izvora: doprinos država članica temeljem bruto nacionalnog dohotka (BND), doprinos država članica temeljem poreza na dodanu vrijednost (PDV), carine, poljoprivredne i posebne pristojbe za šećer i izo/glukozu, mehanizmi korekcije i ostali prihodi i saldo prenesen iz prethodne godine. Prema podacima EK (2019.), pet država koje najviše doprinose proračunu EU svojim BND-om i PDV-om su Njemačka, Francuska, Ujedinjeno Kraljevstvo (UK), Italija i Španjolska, a najmanje Malta i Cipar. Hrvatska je na 21. mjestu.

Višegodišnjim proračunom, definiraju se strateški prioriteti Europske unije. U programskom razdoblju 2014. do 2020. određen je višegodišnji financijski okvir (eng. MFF – *Multiannual financial framework*) u iznosu od 959,51 milijardi EUR za obveze. Ukupni proračun ESI fondova iznosi preko 645 milijardi eura, što predstavlja više od polovice ukupnog proračuna EU-a. Raspodjela fondova prema državama članicama odvija se prema specifičnim potrebama, a pravo na fondove ostvaruju članice sukladno njihovom BDP po stanovniku izraženom kroz SKM, tako da su ESI fondovi više usmjereni na ekonomski manje razvijene države članice, s višim udjelom poljoprivrede u BDP-u, koje ujedno i manje uplaćuju u zajednički proračun (Poljska, Rumunjska, Portugal, Litva, Estonija, Grčka, Mađarska i Latvija). Članice koje više sredstava uplaćuju u proračun nego što povlače su Njemačka,

UK, Francuska, Italija, Nizozemska, Švedska, Austrija, Danska, Irska i Finska (Begg, 2017.; EK, 2019.).

Prema podacima platforme EK o planiranim i ostvarenim investicijama (EK, 2020a.) najveći iznos ukupno raspoloživih sredstava kroz ESI fondove dodijeljen je Poljskoj, dok je Italija sa 75 milijardi eura druga država članica prema visini raspoloživih sredstava. Treće mjesto s iznosom nešto višim od 56 milijardi eura pripada Španjolskoj. Slijedi je Francuska s gotovo 46 milijardi eura raspoloživih sredstava i Njemačka s 44,7 milijardi eura. Zatim slijede Rumunjska, Portugal i Češka s približno 36, 33 i 32 milijarde eura raspoloživih sredstava koje su korisnice svih ESI fondova. Hrvatska i Bugarska imaju na raspolaganju 12,6 i 11,6 milijardi eura kroz sve ESI fondove, a najmanji iznosi pripadaju Malti i Cipru.

### **Utjecaj gospodarstva i digitalnog napretka na iskorištenost sredstava iz ESI fondova**

U analizi čimbenika koji utječu na alokaciju potpora iz fondova postoje različiti pristupi. Autori Incaltarau i sur. (2020.) procjenjuju utjecaj administrativne sposobnosti i čimbenika političkog upravljanja na apsorpciju fondova. Pojašnjavaju kako je politička stabilnost od vitalnog značaja da bi postojeći administrativni kapaciteti mogli proizvesti željeni utjecaj i učinke. Naime, tamo gdje je institucionalna kvaliteta loša, europski fondovi mogu rezultirati iskrivljenjima koja ostavljaju državu u lošijoj situaciji nego što bi bila bez ikakve intervencije u gospodarstvu. Također, Kersan Škabić i Tijanić (2017.) navode da čimbenici ovise o razini s koje promatramo povlačenje sredstava. Ako se radi o nacionalnoj razini, važno je promatrati makroekonomske čimbenike, a ako se radi o apsorpciji na regionalnoj ili lokalnoj razini, tada važnu ulogu ima mikroekonomski aspekt. S jedne strane postoji mogućnost ostvarivanja prava na velike iznose, dok s druge strane apsorpcija ovisi o brojnim ograničenjima koje je teško identificirati i razriješiti u kratkom vremenu jer uključuje angažman posebno obrazovane radne snage koja razumije principe implementacije zajedničkih politika EU i ima specifična znanja o upravljanju projektima (kako napisati, implementirati i prijaviti projekt). Postoje i značajna financijska ograničenja, jer bi projekti EU trebali biti sufinancirani iz nacionalnih, regionalnih i lokalnih resursa, a obično lokalne jedinice nemaju rezerviran novac za ove svrhe (Kersan Škabić i Tijanić, 2017.).

BDP po stanovniku prema SKM-u je pokazatelj ekonomske uspješnosti i često se koristi za usporedbu prosječnog životnog standarda i ekonomske dobrobiti u različitim zemljama. Veći BDP po stanovniku bi trebao značiti veći apsorpcijski kapacitet uzevši u obzir da su države članice s većom ekonomskom vrijednošću u stanju sufinancirati projekte (Incaltarau i sur., 2020.).

DESI pokazatelj prati napredak postignut u državama članicama u pet glavnih područja, a to su povezanost, digitalne vještine, korištenje interneta od strane pojedinaca, integracija digitalnih tehnologija od strane poduzeća i digitalnih javnih usluga. Prosjek tog indeksa u EU je 52,6. Tablica 1 prikazuje koliko je sredstava isplaćeno iz ESI fondova po članicama u 2020. godini te vrijednosti i poredak članica prema BDP po stanovniku u PKM za 2019. i DESI indeksu za 2020. DESI ukazuje na otvorenost i prilagodbu politika digitalnom društvu.

Tablica 1. Apsorpcija ESI fondova i poredak članica prema BDP po stanovniku i DESI

Članica EU	Isplaćeno (%)	BDP po stanovniku u PKM		DESI	
		Vrijednost	Poredak	Vrijednost	Poredak
Finska	69	111	9.	72,3	1.
Irska	62	191	2.	67,7	6.
Austrija	59	127	6.	54,3	13.
Luksemburg	59	261	1.	57,9	10.
Švedska	58	120	7.	69,7	2.
Portugal	49	79	20.	49,6	19.
Estonija	49	84	18.	61,1	7.
Francuska	49	106	10.	52,2	15.
Litva	48	82	19.	53,9	14.
Njemačka	47	121	6.	56,1	12.
Cipar	46	89	16.	44	24.
Nizozemska	46	128	4.	68,9	4.
Malta	45	99	12.	62,7	5.
Latvija	45	69	24.	50,7	18.
Slovenija	45	88	17.	51,2	16.
Mađarska	41	73	22.	47,5	21.
Poljska	41	73	23.	45	23.
UK	41	105	11.	60,4	8.
Bugarska	40	53	28.	36,4	28.
Češka	39	92	14.	50,8	17.
Danska	39	129	3.	77,8	3.
Belgija	38	117	8.	58,7	9.
Slovačka	35	74	21.	45,2	22.
Grčka	35	68	26.	37,3	27.
Italija	35	95	13.	43,6	25.
Rumunjska	34	69	25.	40	26.
Španjolska	33	91	15.	57,5	11.
Hrvatska	31	65	27.	47,6	20.

Izvor: Autori

Luksemburg, Irska, Danska, Nizozemska i Austrija su pet članica koje prednjače po BDP-u po stanovniku prema SKM, s time da je BDP po stanovniku u Luksemburgu veći za 161 % u odnosu na prosjek EU čime prednjači pred drugom po redu Irskom za 70 %. Prema EK (2020b.), Finska, Švedska, Danska i Nizozemska imaju najnaprednija digitalna gospodarstva u EU, a slijede Malta, Irska i Estonija. Bugarska, Grčka, Rumunjska i Italija imaju najniži DESI pokazatelj. Hrvatska zauzima 20. mjesto.

U slučaju ispitivanja povezanosti isplaćenih sredstava i BDP-a po stanovniku prema SKM, utvrđeno je da je koeficijent korelacije 0,53, pri čemu je  $p = 0,003$ , što znači da postoji srednje jaka korelacija između tih dviju varijabli. Zanimljivo je da je skoro jednaka vrijednost jakosti veze od 0,51 ( $p = 0,006$ ) dobivena kod analize povezanosti isplaćenih sredstava i DESI, što također znači da je veza statistički značajna. Iako većina literature apsorpcijski kapacitet dovodi u vezu s BDP-om, Tosun (2013.) i Incaltrau i sur. (2020.) empirijskim istraživanjima potvrđuju da veći utjecaj imaju politička i fiskalna decentralizacija, učinkovitost vlade i institucija općenito, a osobito u borbi s korupcijom. Također, može biti da će razvijenije države članice sporije apsorbirati sredstva, jer imaju kvalitetnije, inovativne projekte koji nastaju duže vremena, imaju dosta vlastitih sredstava za podmirenje potreba ili imaju znatno manje ili drugačije potrebe od slabije razvijenih država. Nadalje, Kersan Škabić i Tijanić (2017.) zbog značajne razlike u socio-ekonomskim odrednicama po regijama predlažu promatranje regija u skupinama prema njihovoj razvijenosti.

## Zaključak

ESI fondovi su instrumenti zajedničkih politika EU uz pomoć kojih se nastoje smanjiti regionalne razlike u socio-ekonomskoj razvijenosti unutar EU. Ciljevi rada bili su opisati preraspodjelu EU proračuna putem ESI fondova i utvrditi povezanost isplaćenih sredstava s ekonomskim standardom država članica i napretkom u pogledu prihvaćanja digitalne tehnologije. Rezultati su pokazali srednje jaku vezu odabranih pokazatelja BDP-a po stanovniku prema SKM (0,53) i DESI (0,51) s udjelom apsorpcije iz ESI fondova. Buduća istraživanja bi trebala ispitati utjecaj većeg broja mjerljivih socio-ekonomskih i čimbenika sposobnosti administrativno-političkih kapaciteta (obrazovanje, radna snaga, institucijski okvir, učinkovitost vlade u borbi s korupcijom) kako bi se stvorila jasnija slika o glavnim čimbenicima apsorpcije fondova.

## Napomena

Rad je nastao temeljem diplomskog rada studenta Mislava Klemenića pod naslovom „Obilježja alokacije sredstava iz Europskih strukturnih i investicijskih fondova (ESIF) od 2014. do 2020. godine“ koji je obranjen dana 25. rujna 2020. na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

## Literatura

- Batchler J., Mendez C. (2020). Cohesion and the EU budget: Is conditionality undermining solidarity. In *Governance and Politics in the Post-Crisis European Union*, Coman R., Crespy A., Schmidt V. A. (ed.), 121-139. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press.
- Begg I. (2017). The EU budget after 2020. *European Policy Analysis* 2017(9). Swedish Institute for European Policy Studies
- Blauberger M., Van Hüllen V. (2020): Conditionality of EU funds: an instrument to enforce EU fundamental values? *Journal of European Integration*. 2020: 1-16.
- Erixon F., Lamprecht P. (2017). New coalitions for Europe's digital future: Building capacity, improving performance. *ECIPE Policy Brief*, No. 3/2017, European Centre for International Political Economy (ECIPE), Brussels.
- European Commission (2019). EU Expenditure and Revenue 2014-2020. *Raspoloživo: [http://ec.europa.eu/budget/graphs/revenue\\_expenditure.html](http://ec.europa.eu/budget/graphs/revenue_expenditure.html)*
- European Commission (2020a). European Structural and Investment Funds Dana. *Raspoloživo: <https://cohesiondata.ec.europa.eu/>*
- European Commission (2020b). Digital Economy and Society Index (DESI) 2020. *Raspoloživo: <https://ec.europa.eu/digital-single-market/en/digital-economy-and-society-index-desi>*
- Hrvatska narodna banka – HNB (2020). Tablica G10a: Godišnji i mjesečni prosjeci srednjih deviznih tečajeva Hrvatske narodne banke. *Raspoloživo: <https://www.hnb.hr/-/srednji-tecaj-hnb-a>*
- Incaltarau C., Pascariu G. C., Surubaru N. C. (2020). Evaluating the Determinants of EU Funds Absorption across Old and New Member States – the Role of Administrative Capacity and Political Governance. *Journal of Common Market Studies*. 58 (4): 941-961.
- Kersan-Škabić I., Tijanić L. (2017). Regional Absorption Capacity of EU Funds. *Economic Research*. 30 (1): 1191-1208.
- Murzyn D. (2020). Smart growth in less developed regions – the role of EU structural funds on the example of Poland. *Innovation: The European Journal of Social Science Research*. 33 (1): 96-113.
- Tosun J. (2013). Absorption of Regional Funds: A Comparative Analysis. *Journal of Common Market Studies*. 52 (2): 371-387.



## **Absorption factors from the European Structural and Investment Funds (ESIF) from 2014 to 2020**

### **Abstract**

The main purpose of ESI funds is to help lagging regions to boost productivity and growth in the region through investment projects. The aim of this paper was to describe the redistribution EU budget through ESI funds in the programming period 2014 - 2020 and to determine whether there is a link between the absorption of funds, the macroeconomic situation and digital progress (DESI) of EU countries. The results showed that the absorption of funds was fastest in Finland, Ireland and Austria, while the slowest was recorded in Croatia, Spain and Romania. The correlation between the payment pattern and GDP per capita and the DESI indicator suggests that these factors play an important role in the absorption of funds.

**Key words:** absorption, EU budget, ESI funds, macroeconomic situation, DESI

## Opasnost od stečaja odabranih craft pivovara u Hrvatskoj

Vesna Očić<sup>1</sup>, Nikola Hinić<sup>2</sup>, Kristina Batelja Lodeta<sup>1</sup>, Branka Šakić Bobić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (vocic@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Donji Bogičevci 55, Draglič, Hrvatska*

### Sažetak

Razvoj craft pivarstva u Hrvatskoj počinje 2013. godine otvaranjem prve craft pivovare, a danas ih posluje oko 90. S obzirom na ovaj trend postavlja se pitanje održivosti takvih pivovara. Cilj rada je utvrditi postoji li opasnost od nastupa stečaja odabranih craft pivovara u razdoblju 2014. - 2019. godine, primjenom Altmanovog Z-scorea. Zmajaska pivovara i Varionica pokazuju rastući trend Z-score indeksa, ali još uvijek posluju u zoni mogućnosti za stečaj u sljedeće dvije godine. Nova runda do 2019. godine posluje čvrsto u zoni zdravih i uspješnih poduzeća, ali 2019. godine pada u zonu visokog rizika od stečaja zbog troška ubrzane amortizacije dugotrajne imovine.

**Ključne riječi:** craft pivovare, stečaj, Altman Z-score

### Uvod

Pivo je jedno od najstarijih alkoholnih pića u svijetu. Najstariji dokazi o proizvodnji piva nađeni su u Iranu, a nakon toga u drevnom Egiptu i Mezopotamiji otkuda se proširilo cijelim svijetom (Marić, 2009.). Od tada su se mijenjale tehnologija proizvodnje i sirovine. Potpisivanje Zakona o kućnom pivarstvu 1976. godine, tadašnjeg predsjednika SAD-a, Jimmyja Cartera, kojim se dozvoljava proizvodnja malih količina piva za osobnu konzumaciju, rezultiralo je iznimnom popularnošću kućnog pivarstva (Murray i O'Neill, 2012.). Početkom 70-tih godina prošlog stoljeća u SAD-u su se počele pojavljivati male pivovare koje se danas nazivaju craft pivovarima (Hinić i sur., 2019.). Prema američkom udruženju pivara Brewers Association, pivovara da bi se smatrala craft pivovarom mora biti mala, nezavisna i tradicionalna. U 2013. godini otvorena je prva hrvatska craft pivovara, a trenutno ih na području Hrvatske posluje 90-tak. Sam izraz craft pivovara u Hrvatskoj nema pravno značenje i nije reguliran zakonima te se umjesto termina craft pivovara koristi termin mala nezavisna pivovara. Mala nezavisna pivovara je pivovara s godišnjom proizvodnjom piva do 125.000 hektolitara koja je pravno i ekonomski neovisna od bilo koje druge pivovare, koja koristi proizvodne (nadzemni i podzemni prostori) i skladišne prostore fizički odvojene od prostora bilo koje druge pivovare u kojoj se proizvodi pivo i koja ne proizvodi pivo prema licenci (Carinska uprava, 2020.).

Cilj ovoga rada je utvrditi postoji li kod pivovara Zmajaska pivovara d.o.o., Nova runda j.d.o.o. i Varionica d.o.o. opasnost od neuspješnog poslovanja i nastupa stečaja primjenom Altmanovog Z-score-a (koeficijenta stečaja).

### Materijal i metode

U radu je primjenjen Altmanov Z-score (koeficijent stečaja) na javno dostupnim financijskim izvještajima odabranih craft pivovara u Hrvatskoj (Zmajaska pivovara d.o.o., Nova runda j.d.o.o. i Varionica d.o.o.), u razdoblju od 2014. do 2019. godine. Zmajaska pivovara d.o.o. je prva hrvatska craft pivovara osnovana 2013. godine, te je iste godine svrstana u 10 najboljih novoootvorenih pivovara na svijetu prema portalu RateBeer (www.ratebeer.com, 2014.). Nova runda j.d.o.o osnovana je u lipnju 2013. godine, a

početkom 2017. godine proglašena je najboljom hrvatskom pivovarom po RateBeer portalu. Varionica d.o.o. je osnovana 2014. godine, a 2018. godine je ugašena kao poslovni subjekt.

Altmanov Z-score je jedan od najpoznatijih modela za predviđanje poslovnih poteškoća (Bogdan i sur., 2019.). Istraživanje Gerantonisa i sur. (2009.) pokazuje da Altmanov model može dobro predvidjeti eventualne poslovne poteškoće. Pionir u razvoju diskriminacijske analize je Altman koji je 1986. godine razvio Z-score model (Luppi i sur., 2007.). Altman je koristio parove poduzeća, te je za svako društvo u stečaju tražio slično društvo (njegov par) koje nije u poteškoćama. Korišten je uzorak od 33 para poduzeća (Sajter, 2008.).

Model nastao tim istraživanjem naziva se Altmanov Z-score indeks te je pokazatelj kojim je glavni cilj predviđanje stečaja u poduzeću. Altmanov Z-score indeks predviđa stečaj u roku od jedne ili dvije godine. Inicijalna Altmanova formula za izračun Z-score indeksa, namijenjena proizvodnim poduzećima koja kotiraju na burzi, glasi:

$$Z = 1,2X1 + 1,4X2 + 3,3X3 + 0,6X4 + 1,0X5$$

gdje je:

Z = ukupni indeks

X1 = radni kapital / ukupna imovina

X2 = zadržana dobit / ukupna imovina

X3 = dobit prije kamata i poreza / ukupna imovina

X4 = tržišna vrijednost imovine / ukupni dug

X5 = prodaja / ukupna imovina (Kereta i Barišić, 2019.).

Ukupni Z indeks ima ključne vrijednosti od 1,81 i 2,67. Vrijednosti ispod donje granice označavaju da je društvo u poteškoćama, a vrijednosti iznad gornje granice da je društvo trenutno zdravo. Otvoreni skup između 1,81 i 2,67 čini zonu neodređenosti, gdje se ne može sa sigurnošću govoriti o financijsko-poslovnom stanju poduzeća (Sajter, 2008.). Problem originalnog Z-score modela bio je u nemogućnosti izračuna vrijednosti indeksa i predviđanja za poduzeća koja ne kotiraju na burzi kapitala. Umjesto nasumične vrijednosti Altman predlaže korigirani Z-score model, u kojemu omjer X4 postaje omjer knjigovodstvene vrijednosti tvrtke i ukupnog zaduženja. Izmjenom pokazatelja X4 dobivena je nova formula:

$$Z' = 0,717X1 + 0,847X2 + 3,107X3 + 0,42X4 + 0,998 X5$$

Granice vjerojatnosti nastupanja stečaja modificiranog modela se razlikuju od graničnih vrijednosti originalnog modela. Ukoliko je vrijednost Z-score modela niža od 1,23 takva poduzeća imaju visok rizik od stečaja, vrijednost između 1,24 i 2,68 znači stečaj u roku dvije godine, vrijednosti između 2,69 i 2,89 daju mali razlog za zabrinutost, a poduzeća sa Z-scoreom iznad 2,9 su zdrava i uspješna poduzeća (Kereta i Barišić, 2019.).

U ovom radu Altmanov Z-score indeks izračunat je prema korigiranoj formuli namijenjenoj za predviđanje stečaja proizvodnih tvrtki čije dionice ne kotiraju na burzi.

## Rezultati i rasprava

Najviše vrijednosti X1 pokazatelja (udio radnog kapitala u ukupnoj imovini društva) ima Nova runda j.d.o.o., s iznimkom 2019. godine koja bilježi veliki pad ovog pokazatelja. Zmajaska pivovara d.o.o. i Varionica d.o.o. pokazuju rastući trend X1 pokazatelja (Tablica 1). Kod društava koja posluju s gubicima pada udio kratkotrajne imovine u ukupnoj imovini zbog čega dolazi do poteškoća u podmirivanju kratkoročnih obveza (Mikša, 2016.), što je moguće slučaj kod Nove runde u 2019. godini.

Tablica 1. Odnos radnog kapitala i ukupne imovine craft pivovara

X1 pokazatelj	2014.	2015.	2016.	2017.	2018.	2019.
Zmajaska pivovara	0,11358	0,23574	0,26357	0,43507	0,50356	0,49171
Nova runda	0,00427	0,66104	0,66817	0,54408	0,66397	0,12652
Varionica	0,00982	-0,57464	-0,34610	0,11726	0,34151	-

Pokazatelj X2 stavlja u odnos zadržanu dobit i ukupnu imovinu društva što predstavlja važan oblik financiranja društva. Odabrane pivovare zadržavale su većinu dobiti u godinama kada su poslovale s dobiti te je i pokazatelj X2 rastao kroz godine, uz iznimku 2019. godine kod Nove runde j.d.o.o. (Tablica 2).

Tablica 2. Odnos zadržane dobiti i ukupne imovine craft pivovara

X2 pokazatelj	2014.	2015.	2016.	2017.	2018.	2019.
Zmajaska pivovara	-0,00161	-0,05416	0,01423	0,13980	0,30123	0,43935
Nova runda	0,00000	0,00208	0,05688	0,21058	0,38616	0,19175
Varionica	0,00000	-0,18414	-0,21227	-0,02970	0,06000	-

Pokazatelj X3 stavlja u omjer dobit prije kamata i poreza s ukupnom imovinom društva. Taj omjer prikazuje rentabilnost imovine, a budući da se množi s najvećim ponderom u formuli Z-score modela predstavlja i najvažniji pokazatelj u predviđanju stečaja. Nova runda j.d.o.o. je najprofitabilnija craft pivovara, s iznimkom 2019. godine u promatranom razdoblju (Tablica 3).

Tablica 3. Odnos dobiti prije kamata i poreza te ukupne imovine craft pivovara

X3 pokazatelj	2014.	2015.	2016.	2017.	2018.	2019.
Zmajaska pivovara	-0,03202	0,13073	0,19539	0,04157	0,15786	0,05005
Nova runda	0,00656	0,25834	0,40890	0,53430	0,45902	0,00118
Varionica	-0,45445	-0,16836	0,18159	0,15226	0,31022	-

Za proizvodna društva čije dionice ne kotiraju na burzi omjer X4 računa se odnosom tržišne vrijednosti imovine i ukupnog duga društva. Omjer pokazuje koliko imovina poduzeća može izgubiti na vrijednosti prije nego što poduzeće postane insolventno (Čikeš, 2016.). I prema ovom omjeru Nova runda j.d.o.o je najuspješnija craft pivovara, uz iznimku 2019. godine (Tablica 4).

Tablica 4. Odnos tržišnih vrijednosti imovine i ukupnih dugova craft pivovara

X4 pokazatelj	2014.	2015.	2016.	2017.	2018.	2019.
Zmajaska pivovara	-0,04869	0,03166	0,27073	0,65059	0,73010	0,85349
Nova runda	0,00429	1,95020	2,06369	3,14909	9,32483	0,40907
Varionica	-0,24926	-0,23706	-0,00939	0,13427	0,52406	-

Pokazatelj X5 stavlja u omjer prihode od prodaje i ukupnu imovinu čime prikazuje aktivnost društva. Zmajaska pivovara d.o.o. od osnutka pivo proizvodi u vlastitom pogonu zbog čega ima najviše vrijednosti ukupne imovine, a time i najniže koeficijente obrta ukupne imovine u odnosu na preostale dvije pivovare, međutim jedina bilježi rast ovog pokazatelja u promatranom periodu. Unatoč padajućem trendu Nova runda j.d.o.o. još uvijek ima najviše pokazatelje aktivnosti društva (Tablica 5).

Tablica 5. Odnos vrijednosti prodaje i ukupne imovine craft pivovara

X5 pokazatelj	2014.	2015.	2016.	2017.	2018.	2019.
Zmajska pivovara	0,11433	0,83696	1,02929	1,07271	1,05109	1,03194
Nova runda	0,76552	4,08291	3,05419	2,72908	2,28967	0,60737
Varionica	0,05482	1,42480	2,13271	1,99915	0,96927	-

Kod Zmajске pivovare d.o.o. vidljiv je rast Z-score indeksa (uz iznimku manjeg pada 2019.) prema vrijednostima iznad 2, čime ovo poduzeće lagano povećava stabilnost svog poslovanja iako je još u kategoriji onih s mogućnošću stečaja u sljedeće dvije godine. Nova runda j.d.o.o. je do 2019. godine poslovala čvrsto u zoni zdravih i uspješnih poduzeća, ali 2019. godina daje razloge za zabrinutost. U 2019. Nova runda ima drastičan pad dobiti u odnosu na prethodnu godinu (razlog tome je ubrzana amortizacija koja je generirala amortizacijske troškove i time smanjila zabilježenu dobit). Varionica d.o.o. ima rastući trend Z-score indeksa, ali je 2018. godine prekinula s poslovanjem (Tablica 6).

Tablica 6. Altman Z-score indeksi odabranih craft pivovara u razdoblju od 2014. do 2019. godine

Altman Z-score	2014.	2015.	2016.	2017.	2018.	2019.
Zmajska pivovara	0,07427	1,37818	1,94896	1,90263	2,46080	2,26635
Nova runda	0,78923	6,17221	5,71226	6,27373	8,42890	1,03379
Varionica	-1,45490	0,23224	2,26180	2,58370	2,44668	-

## Zaključak

Iako pivovare Zmajska pivovara d.o.o. i Varionica d.o.o. pokazuju rastući trend Z-score indeksa, još uvijek posluju u zoni opasnosti od stečaja u sljedeće dvije godine. Pivovara Nova runda j.d.o.o. do 2019. godine ima značajno viši Z-score indeks od gornje granice zone neodređenosti (2,9) te se može zaključiti da je riječ o zdravom i uspješnom poduzeću. Razloge za zabrinutost ipak daje 2019. godina u kojoj je Z-score indeks pao ispod 1,23 što označava visok rizik od stečaja, ali je to u ovom slučaju uzrokovano ubrzanom amortizacijom dugotrajne imovine što ne daje povoda za zabrinutost oko uspješnog nastavka rada ove pivovare.

## Napomena

Rad je izvod iz diplomskog rada Nikole Hinića, mag.ing.agr. naslova: „Uspješnost poslovanja i mogućnost nastupa stečaja odabranih craft pivovara u Hrvatskoj” obranjenog dana 16.07.2020., Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, napravljenog unutar AgriFoodBoost projekta.

## Literatura

- Bogdan S., Bareša S., Hađina V. (2019). Testiranje primjenjivosti Altmanovog Z-score modela za predviđanje stečaja u Republici Hrvatskoj. *Nototia - časopis za ekonomske, poslovne i društvene teme*, 5 (1): 31-46. Raspoloživo: [https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id\\_clanak\\_jezik=337113](https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=337113)
- Carinska uprava Republike Hrvatske Ministarstvo financija. Ishodjenje odgovarajućeg trošarinskog statusa. Raspoloživo: <https://carina.gov.hr/ishodjenje-odgovarajućeg-trosarinskog-statusa/3705>
- Čikeš A. (2016). Kriza i poslovne performanse poduzeća mjerene Z-score i BEX indeksom. Diplomski rad. Split, Hrvatska: Sveučilište u Splitu Ekonomski fakultet.
- Gerantonis N., Vergos K., Christopoulos A.G. (2009). Can Altman Z-score Models Predict Business Failures in Greece. *Research Journal of International Studies*. 12: 21-28.

- Raspoloživo: [https://www.academia.edu/338693/Can\\_Altman\\_Z\\_Score\\_Models\\_Predict\\_Business Failures\\_In\\_Greece](https://www.academia.edu/338693/Can_Altman_Z_Score_Models_Predict_Business Failures_In_Greece)
- Hinić N., Mesić Ž., Tomić Maksan M. (2019). Ponašanje hrvatskih potrošača u konzumaciji craft piva. Proceedings 54th Croatian and 14th International Symposium on Agriculture, Mioč B., Širić I. (ur.), 112-116. Zagreb, Hrvatska: Agronomski fakultet Zagreb.
- Luppi B., Marzo M., Scorcu A. (2007). A credit risk model for Italian SMEs, Quaderni - Working Paper DSE, No. 600., 1-39. Bologna, Italy: Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Economiche (DSE) Raspoloživo: <http://amsacta.unibo.it/4674/1/600.pdf>
- Kereta J., Barišić D. (2019). Predviđanje predstečaja odabranog poduzeća temeljem izračuna Altmanovog Z-score pokazatelja i Bex pokazatelja. *Obrazovanje za poduzetništvo*. 9 (2): 20-34. Raspoloživo: [https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id\\_clanak\\_jezik=335103](https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=335103)
- Marić V. (2009). Tehnologija piva. Karlovac, Hrvatska: Veleučilište u Karlovcu.
- Mikša I. (2016). Ključni pokazatelji uspješnosti poslovanja trgovačkog društva. RRIF visoka škola za financijski menadžment Zagreb. Specijalistički diplomski stručni rad. Raspoloživo: <https://repozitorij.rvs.hr/islandora/object/rvs%3A65/datastream/PDF/view>
- Murray W.D., O'Neill M.A. (2012). Craft beer: penetrating a niche market. *British Food Journal*. 114 (7): 899-909.
- Nova runda j.d.o.o. Raspoloživo: <https://novarunda.com/>
- Portal RateBeer. Raspoloživo: <https://www.ratebeer.com/>
- Sajter D. (2008). Ekonomski aspekti stečaja i restrukturiranja u stečaju. Ekonomski fakultet u Osijeku. Doktorska disertacija.
- Varionica d.o.o. Raspoloživo: <https://varionica.com/?lang=en>
- Zmajaska pivovara d.o.o. Raspoloživo: <https://www.zmajskapivovara.hr/>

## Possibility of bankruptcy for selected craft breweries in Croatia

### Abstract

The development of craft brewing in Croatia began in 2013 with the opening of the first craft brewery, and today there are about 90 of them operating. Given this trend, the question of the sustainability of such breweries arises. The aim of this paper is to determine whether there is a risk of bankruptcy of selected craft breweries in the period 2014 - 2019, using Altman's Z-score. Zmajaska brewery and Varionica show a growing trend of the Z-score index but are still operating in the bankruptcy zone for the next two years. New round until the year 2019 operates firmly in the zone of healthy and successful companies, but in 2019 it falls into the zone of high risk of bankruptcy due to the accelerated depreciation costs of fixed assets.

**Key words:** craft breweries, bankruptcy, Altman Z-score

## Udruživanje hrvatskih poljoprivrednika u proizvođačke organizacije: izgledi u kontekstu novog zakonodavstva

Tajana Radić<sup>1</sup>, Ornella Mikuš<sup>2</sup>, Saša Paprika<sup>3</sup>, Dario Gazić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hrvatska poljoprivredna komora, Ulica grada Vukovara 78, Zagreb, Hrvatska  
(tajana.radic@komora.hr)

<sup>2</sup>Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za agrarnu ekonomiku i ruralni razvoj  
Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Ministarstvo poljoprivrede, Služba za proizvođačke organizacije i hortikulturu, Ulica grada Vukovara 78, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Osnaživanje poljoprivrednih gospodarstava putem udruživanja u proizvođačke organizacije preporučuju Europska komisija i Svjetska banka. U skladu s ciljevima Nacionalne razvojne strategije Republike Hrvatske do 2030. proizvođačke organizacije predstavljaju model za jačanje konkurentnosti i inovacija u poljoprivredi i akvakulturi. Stoga je cilj ovog rada utvrditi percepciju poljoprivrednih proizvođača u pogledu pridruživanja proizvođačkih organizacija u sektorima voćarstva, povrtlarstva, maslinarstva i mljekarstva ispitivanjem proizvođača metodom fokusnih skupina. Rezultati su pokazali da niska razina kulture suradnje, nepovjerenje, te lokacijska disperzija proizvođača onemogućavaju snažniji razvoj proizvođačkih organizacija.

**Ključne riječi:** fokus grupe, proizvođačke organizacije, zajednička poljoprivredna politika (ZPP), zadruge

### Uvod

Proizvođačka organizacija (PO) objedinjuje ostale organizacijske oblike udruživanja u cilju održive i konkurentne poljoprivredne proizvodnje. Organiziranjem proizvođača u proizvođačke organizacije olakšava se pristup tržištima, proizvodnja, opskrba kao i stabilnije poslovanje proizvođača (Ministarstvo poljoprivrede, 2020.). Temeljno načelo i smisao odredbi Uredbe o zajedničkoj organizaciji tržišta (Europska komisija, 2013.) je definiranje i promoviranje udruživanja i koristi koji iz njega proizlaze kao jednog od mogućih načina uspješnog poslovanja primarnih poljoprivrednih proizvođača (proizvođača sirovine). Negativna percepcija i nasljeđe zadružnog sustava u Hrvatskoj nepovoljno su utjecale na svijest o potrebi udruživanja što rezultira niskom razinom organiziranosti poljoprivrednika. Međutim, kako bi se smanjila negativna percepcija i osnažilo udruživanje, i u budućem razdoblju planirano je korištenje sredstava Zajedničke poljoprivredne politike EU (ZPP) putem Europskog fonda za jamstva u poljoprivredi (EFJP) i Europskog poljoprivrednog fonda za ruralni razvoj (EPFRR) (Europska Komisija, 2018.). Osnova za korištenje tih financijskih sredstava je visina utržene proizvodnje, što podrazumijeva dokazivanje utrživosti proizvodnje PO. Od prvih pokušaja propisivanja nacionalnih pravila o proizvođačkim organizacijama (Narodne Novine, 149/2009, 4/2010) ne uspijeva se postići konsenzus oko pitanja koja se odnose na brojnost i veličinu PO. Stoga se, u smislu reprezentativnosti, nameće pitanje koliki broj članova je optimalan za formiranje kao i kolika bi trebala biti minimalne utrživa vrijednost pravne osobe koja podnosi zahtjev za priznavanje proizvođačke organizacije?

U Hrvatskoj je, prema Registru zadružnog sustava iz 2021. registrirano 1.181 zadruga od toga je 483 zadruge iz poljoprivrednog sektora (Ministarstvo gospodarstva i održivosti, 2021.). U istima je zastupljeno 7.297 zadrugara te 1.178 zaposlenih. Prema Upisniku poljoprivrednika upisano je 355 zadruga (Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju, 2020a.). Proizvođačkih organizacija trenutno je priznato 17, a okupljaju oko 700 članova (Europska komisija, 2020.). Broj zadruga i PO-a nije zanemariv kao niti udio zaposlenih, ali i dalje nedovoljan ukoliko se uspoređi s ukupnim brojem 170.837 poljoprivrednih proizvođača (Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju, 2020b.). Sukladno navedenoj raspravi, cilj istraživanja je dobiti uvid u percepciju poljoprivrednih proizvođača o udruživanju u PO.

### Materijal i metode

Ispitivanje je provedeno kroz četiri fokus grupe od veljače 2020. do ožujka 2021., s predstavnicima različitih sektora. U zajedničkoj fokus grupi povrtlarstva i voćarstva sudjelovalo je 8 ispitanika, u fokus grupi maslinarstva 6, voćarstva 14, a u fokus grupi mljekarstva 8 sudionika. Podaci dobiveni u fokus grupama mogu poslužiti kao podloga donositeljima odluka u cilju korištenja politika utemeljenim na dokazima (engl. *evidence based policy*) (Cartwright i Hardie, 2012.). U svakoj fokus grupi vodilo se računa o veličini gospodarstva sudionika, regionalnoj raspodjeli i tipu gospodarstva koji odgovara strukturi na nacionalnom nivou kako bi se osigurala ravnoteža ispitanika tijekom ispitivanja. Ukupno je u navedene četiri fokus grupe sudjelovalo 36 predstavnika proizvođača, udruženja i savjetodavaca. Predstavnici Ministarstva poljoprivrede, prije rasprave, održali su kratke prezentacije osim u fokus grupi za mljekarstvo, a predstavnici Hrvatske poljoprivredne komore zapisivali su odgovore ispitanika.

### Rezultati i rasprava

Ispitanici u sektoru voća i povrća, koji trenutno imaju četiri registrirana PO-a, zaključili su kako je održivu i konkurentu proizvodnju te vidljivost PO na tržištu moguće ostvariti ukoliko osnivanje PO ima za kriterij veći broj članova i višu vrijednost utržive proizvodnje. Nekolicina manjih OPG-ova istaknuli su suprotno razmišljanje, iskazali su zabrinutost oko nemogućnosti osnivanja velike, održive PO (npr. proizvođači krušaka ili neke druge manje razvijene/zastupljene kulture). Jasan im je model snažne i održive PO, no postoji i određeno nepovjerenje pojedinaca u udruživanja kroz velike PO koje bi objedinjavale više proizvođača. Analiza procesa razvoja PO u Litvi i drugim postkomunističkim državama pokazuju slične rezultate u kojem međusobno nepovjerenje, ekonomski, organizacijski i pravni problemi usporavaju udruživanje proizvođača (Ramanauskas i sur., 2017.). Također, prema istraživanju Žažar (2020.) zadruge u Hrvatskoj ne predstavljaju osobito uspješne, ni propulzivan organizacijski oblik ili su prizvuk nečeg lošeg (Smarter, 2020.). Manji OPG-ovi i proizvođači iz sektora maslinarstva slično razmišljaju i trenutni kriterij osnivanja PO koji se odnosi na 3.000.000,00 kn minimalne utržive vrijednosti smatraju previsokim, te predlažu 1.500.000,00 kn minimalne utržive vrijednosti (Narodne novine, 87/2020, 129/20). Navode kako je problem u sektoru maslinarstva, osim nepovjerenja i rascjepkanost poljoprivrednih površina, prosječno 0,81 ha (Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju, 2020b.). Također, maslinari smatraju ako je kriterij za osnivanje PO sedam članova, zadruge bi trebale imati niži prag, to jest tri člana te traže izmjenu Zakona o zadrugama (Narodne novine, 34/2011). Iz sektora mljekarstva razmišljaju suprotno, prema njima bi zadružno udruživanje narušilo postojeći model povezivanja i smanjio broj udruženih mljekara. Trenutni sustav udruživanja im osigurava jeftiniji repromaterijal ili povećanje prometa rasplodnog materijala. Međutim, imaju slabu pregovaračku moć kao PO jer članovi mogu pojedinačno dogovarati cijene otkupa te je uključivanje novih članova teško zbog



slabog interesa poljoprivrednih proizvođača. Svi ispitanici smatraju kako težište mora biti na osiguravanju proizvodnje prilagođene potražnji, posebno u dijelu kvalitete i količine, optimizaciji troškova proizvodnje, promociji zajedničke proizvodnje, te provođenju istraživanja konkurentnosti na tržištu sa svrhom jačanja položaja proizvođača. U Tablici 1 prikazane su najčešće spominjane teme tijekom fokus grupa i koliko se sudionika referiralo na specifičnu temu. Incidencija označava pojavnost neke teme u različitim podsektorima tj. prikazuje udio fokus grupa u kojima se neka tema pojavila, a frekventnost označava ukupnu brojnost pojedinačnih iskaza sudionika fokus grupa o određenoj temi tj. pokazuje koliko sudionika fokus grupa se ukupno referiralo na specifičnu temu (Munta, 2021.)

Tablica 1. Najčešće spominjane teme u kontekstu proizvođačkih organizacija

	Tema	Incidencija	Frekventnost
1.	Potrebna izmjena pravnog okvira i prilagođavanje zadrugnog sustava proizvođačkim organizacijama	2/4	20
2.	Potrebna prilagodba kriterija broja članova za formiranje proizvođačke organizacije	2/4	20
3.	Potrebna prilagodba financijskih kriterija za formiranje proizvođačke organizacije	2/4	14
4.	Potrebna je regionalna raspodjela logističko-skladišno-distributivne infrastrukture	2/3	20
5.	Potreban snažniji sustav sljedivosti proizvoda i promocija proizvodnje	2/3	20
6.	Rezultati udruživanja u PO moraju optimizirati troškove proizvodnje	4/4	36

Izvor: autori

Zbog velikog broja malih gospodarstava na fokus grupama, naglasak u biljnom sektoru stavljen je na veće uključivanje zadruga u proces priznavanja PO-a. Uzimajući u obzir način rada, donošenja odluka i upravljanja poslovanjem proizvođačke organizacije, zadrugni koncept najbliži je konceptu proizvođačke organizacije. Na razini EU klasifikacija ovisi o državi članici tj. o obliku koji je dominantan. On može biti udruga, zadruga, partnerstvo, društvo s ograničenom odgovornošću, korporacija ili neki drugi oblik (Bijman, 2012.). Neovisno o različitim klasifikacijama i oblicima, trebalo bi voditi računa o tome koji je stvarni cilj proizvođačkih organizacija. Smisao stvaranja PO-a na razini EU je jačanje položaja proizvođača (Europska komisija, 2020.) u odnosu na druge dionike lanca opskrbe hranom (otkupljivače, prerađivače, trgovce). Primjerice u sektoru voćarstva, Austrija je 2017. imala pet PO-a s koncentracijom proizvodnje 22,5 %, za razliku od Italije koja je imala 171 PO s koncentracijom proizvodnje 28 % (Europska komisija, 2019.). Irska se fokusirala na samo dva PO-a u sektoru voća i povrća, iako ima priznatih 17, jer se pokazalo kako male proizvođačke organizacije nisu konkurentne na tržištu (Ramanauskas i sur., 2017.). One bi trebale biti posrednici između velikog broja malih poljoprivrednih domaćinstava i kupaca (Camanzi i sur., 2011.). Iskustva država članica Europske unije s obzirom na dominantan pravni oblik proizvođačke organizacije su različita, a ovise o povijesnom i socioekonomskom nasljeđu, stanju i stupnju razvijenosti poljoprivrede, osobito u pogledu diversifikacije poljoprivrednih djelatnosti, razini izgrađenosti i strukturi lanca opskrbe potrošača hranom i poziciji poljoprivrednih gospodarstava u njemu te razini tržišne orijentiranosti poljoprivrednika. Bez obzira na podjelu i klasifikaciju PO-a, rezultati studije Svjetske banke (2019.) izrađene za potrebe donošenja Nacionalne razvojne strategije Republike Hrvatske do 2030. (Narodne Novine, 13/2021) ukazuju da većina poljoprivrednih gospodarstava u Hrvatskoj nema dovoljnu ekonomsku snagu i investicijski potencijal što u

konačnici negativno utječe na prijeko potrebnu fleksibilnost pri održivosti poslovanja i uspješno nošenje s kriznim situacijama na tržištu. Takva situacija nije samo u Hrvatskoj nego diljem svijeta u državama u kojima je visoka zastupljenost malih gospodarstva, a čemu svjedoči istraživanje FAO organizacije (2016.) koja u cilju poboljšanja postojećeg stanja naglašava važnost proizvođačkih organizacija i zadruga stavljajući ih u kontekst pružanja podrške malim poljoprivrednim proizvođačima.

## Zaključak

Cilj rada bio je utvrditi percepciju dionika o udruživanju u proizvođačke organizacije u sektoru voćarstva, povrtlarstva, maslinarstva i mljekarstva. Rezultati su pokazali da niska razina kulture udruživanja, nepovjerenje, te lokacijska disperziranost proizvođača onemogućuju snažniji razvoj PO-a. S obzirom da su ispitanici stavili naglasak na postojeće zadruge, bila bi korisna detaljna lokacijska, strukturna i financijska analiza postojećih zadruga, pozitivnih primjera prakse te projekcija potencijalnog umrežavanja uspješnih primjera zadruga u PO prema kriterijima zastupljenosti (geografska, strukturna i ekonomska). Također, postoje znatne razlike sektorskih mogućnosti udruživanja osobito u sektoru maslinarstva te je potrebna detaljnija analiza u cilju poboljšanja umrežavanja većeg broja dionika. Mogućnosti koje pruža udruživanje primarnih poljoprivrednih proizvođača u predstojećem razdoblju propisane su dokumentima kojima se uređuje novo programsko razdoblje ZPP-a. Osobit značaj i naglasak stavlja se na PO koji će svojim ciljanim djelovanjima u sektoru za koji su priznata provoditi tzv. sektorske intervencije i na taj način pridonositi unaprjeđenju stanja u pojedinom sektoru. Načela proizvođačkih organizacija promoviraju uključenost i rast, kako brojnošću članstva, tako i ekonomskim vrijednostima, te stoga proizvođačka organizacija ne smije biti alat i sredstvo za stvaranje zatvorenih sustava koje će osnivati i u okviru kojih će poslovati nekolicina pojedinaca, već treba služiti jačanju konkurentnosti većeg broja proizvođača koji žele pristupiti istoj i pridonijeti unaprjeđenju vlastitog, kao i zajedničkog poslovanja.

## Literatura

- Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju (2020a). Upisnik poljoprivrednika. Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju (2020b). Prikaz broja i površina ARKOD-a po naseljima i vrsti uporabe poljoprivrednog zemljišta.
- Bijman J. (2012). Support for Farmers' Cooperatives; Developing a typology of cooperatives and producer organisations in the EU. Wageningen: Wageningen UR.
- Camanzi L., Malorgio G., Garcia Azcarate T. (2011). The Role of Producer Organizations in Supply Concentration and Marketing: A Comparison between European Countries in the Fruit and Vegetable Sector. *Journal of Food Products Marketing*. 17 (2-3): 327-354.
- Cartwright N., Hardie J. (2012). Evidence-Based Policy: A Practical Guide to Doing It Better. Oxford: Oxford University Press.
- Europska komisija (2020). Preporuke Komisije za strateški plan Hrvatske u okviru ZPP-a. SWD, 384.
- Europska komisija (2019). Study of the best ways for producer organisations to be formed, carry out their activities and be supported, Brisel.
- Europska komisija (2018). Prijedlog Uredbe Europskog Parlamenta i Vijeća o utvrđivanju pravila o potpori za strateške planove koje izrađuju države članice u okviru zajedničke poljoprivredne politike. COM, 392 final.
- Europska komisija (2013). Uredba (EU) o uspostavljanju zajedničke organizacije tržišta poljoprivrednih proizvoda. Uredba (EU) br. 1308/2013.
- FAO (2016). Forest and farm producer organizations – operating systems for the SDGS. Food and agriculture organization of the United Nations, AgriCord, Rim.
- Hrvatska poljoprivredna komora (2020-2021). Zapisnici Fokus grupa.
- Ministarstvo gospodarstva i održivosti (2021). Registar zadruga.
- Ministarstvo poljoprivrede (2020). Vodič za proizvođačke organizacije.

- Munta M. (2021). Izvješće o provedenim konzultacijama s predstavnicima sektora biljne proizvodnje. Hrvatska poljoprivredna komora i Nacionalna ruralna mreža. Narodne Novine, 13/2021. Nacrt prijedloga Nacionalne razvojne strategije Republike Hrvatske do 2030. godine.
- Narodne novine, 4/2010, 87/2020, 129/2020. Pravilnik o proizvođačkim organizacijama u sektoru voća i povrća.
- Narodne novine, 34/2011. Zakon o zadrugama.
- Narodne novine, 149/2009. Zakon o uređenju tržišta poljoprivrednih proizvoda.
- Ramanauskas J., Žukovskis J., Zinovchuk V. (2017). Agricooperatives and Producer's organisations: Case of EU countries and lessons for Ukraine. *Management Theory and Studies for Rural Business and Infrastructure Development*. 39 (3): 333-346.
- Svjetska banka (2019). Stanje sektora i analiza javnih izdataka za poljoprivredu i ruralni razvoj. [www.smarter.hr](http://www.smarter.hr) (2020). Bez udruživanja nema opstanka u poljoprivredi, činjenice o zadrugama. Raspoloživo: <https://smarter.hr/bez-udruzivanja-nema-opstanka-u-poljoprivredi-cinjenice-o-zadrugama/>
- Žažar K. (2020). Zadruge u Hrvatskoj – neučinkovit, nepoželjan ili neprepoznat organizacijski oblik?. *Socijalna ekologija: časopis za ekološku misao i sociološka istraživanja okoline*. 29 (3): 363-388.

### **Association of Croatian farmers in producer organizations: prospects in the context of new legislation**

The empowerment of agricultural holdings through producer organisation is recommended by the European Commission and the World Bank. In accordance with the objectives of the National Development Strategy of the Republic of Croatia until 2030, producer organisation represents a model for strengthening competitiveness and innovation in agriculture and aquaculture. Therefore, the aim of this paper is to determine the perception of agricultural producers with respect to joining producer organizations in the sectors of fruit growing, vegetable growing, olive growing and dairy farming by questioning producers using the focus group method. The results showed that the low level of cooperation culture, mistrust and locational dispersion of producers disable a stronger development of producer organisations.

**Key words:** focus groups, producer organizations, Common Agricultural Policy (CAP), cooperatives

## Stav vinogradara Zagrebačke županije prema novim tehnologijama za praćenje vinogradarske proizvodnje

Ivana Rendulić Jelušić<sup>1</sup>, Josip Kraljičković<sup>1</sup>, Marko Karoglan<sup>2</sup>, Zoran Grgić<sup>2</sup>, Branka Šakić Bobić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zagrebačka županija, Ulica grada Vukovara 72, Zagreb, Hrvatska (i.rendulic@zagrebacka-zupanija.hr)

<sup>2</sup>Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Važnim preduvjetom za korištenje novih tehnologija za praćenje vinogradarske proizvodnje smatra se stav vinogradara prema novim tehnologijama. O stavu i karakteristikama proizvođača ovisi prihvaćanje ili odbijanje određenih inovacija. Stav profesionalnih vinogradara Zagrebačke županije ispitan je metodom ankete koja je uz osnovna obilježja ispitanika testirala stavove vinogradara prema prednostima korištenja i razlozima nekorištenja novih tehnologija. Rezultati pokazuju pozitivan stav vinogradara prema korištenju novih tehnologija bez obzira na stupanj obrazovanja i dob. Glavni razlozi nekorištenja novih tehnologija su nedostatak relevantnih informacija i financijskih sredstava za ulaganja.

**Ključne riječi:** anketa, stavovi, nove tehnologije, vinogradarstvo, Zagrebačka županija

### Uvod

Nove tehnologije (NT) i precizno vinogradarstvo (PV) mogu se definirati kao skup alata i mjera kojima se optimizira vinogradarska proizvodnja, povećava prinos i kvaliteta grožđa uz učinkovito i održivo korištenje proizvodnih resursa i inputa kao što su tlo, gnojiva, zaštitna sredstva, voda i energija, a s ciljem smanjenja troškova proizvodnje i vlastitog rada te minimiziranja negativnog utjecaja na okoliš (Matese i Di Genaro, 2015.). Kako bi proizvođači počeli primjenjivati NT u svojoj proizvodnji, nužno je imati određeni stav prema NT. Stav može biti pozitivan ili negativan, može se mijenjati, a bazira se na odluci pojedinca koju on donosi na temelju iskustva i učenja. Postoje mnoge teorije koje objašnjavaju stav i kreiranje stava, kao što je Teorija difuzije (Rogers, 1983. citirano u Adrian i sur., 2005.) koja navodi da prihvaćanje inovacija ovisi o percepciji pojedinca spram inovacije. Kako bi što bolje mogli prepoznati potrebe vinogradara i što sve utječe na njihov stav prema korištenju NT i inovacija, nužno je sagledati karakteristike vinogradara i gospodarstva (dob, edukacija, iskustvo, površina, broj parcela) (Tey i Brindal, 2012.; Kernecker i sur., 2018.), korištenje ostalih IT tehnologija i kompjutersku pismenost, informiranost o NT i njihovim karakteristikama (Tey i Brindal, 2012., Barnes i sur., 2019.) te ekonomsku analizu isplativosti primjene NT (Adrian i sur., 2005., Tey i Brindal, 2012.; Aubert i sur., 2012., Kernecker i sur., 2018., Barnes i sur., 2019.).

### Materijali i metode

Oslanjajući se na dosadašnja empirijska istraživanja (Kernecker i sur., 2018.), za izradu istraživačkog rada kreiran je anketni upitnik koji se sastojao od 44 pitanja i to 11 pitanja otvorenog tipa i 33 pitanja zatvorenog tipa s ponuđenim kategorijama odgovora. Zatvorenim pitanjima i tvrdnjama pridružene su nominalne skale odgovora (različitog broja ponuđenih kategorija) ili ordinalne ljestvice procjene (različitog broja ponuđenih stupnjeva). U anketnom upitniku NT odnose se na upotrebu drona u vinogradu, senzore za tlo,

meteorološke stanice, mobilne aplikacije za praćenje proizvodnje te Vinerobot (samohodni stroj opremljen različitim vrstama senzora; Tardáguila i sur., 2017.) čije su slike i prikazane ispitanicima. Kao relevantna populacija vinogradara u ovom istraživanju odabrani su profesionalni vinogradari koji imaju više od 0,5 ha vinograda i najmanje dva vina kojima je izdano Rješenje za promet vina u 2018. godini sa zaštićenom oznakom izvornosti (ZOI) za područje Zagrebačke županije. Planiranim uzorkom obuhvaćeno je 42 vinogradara, različitih dobnih skupina, različite razine obrazovanja te različitih površina vinograda koje obrađuju. Prikupljanje podataka provedeno je putem Google Forms platforme u periodu od ožujka do lipnja 2019. godine. Podaci su analizirani i obrađeni u statističkom programskom paketu SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0.).

## Rezultati i rasprava

Od ukupno 42 kontaktirana vinogradara s područja Zagrebačke županije anketni je upitnik ispunilo njih 23. Stopa odaziva ispitanika iznosila je 54,76 %. S obzirom na način provedbe istraživanja i odabira ispitanika, radi se o neprobabilističkoj vrsti uzorka, koji je po tipu namjerni uzorak. S obzirom na to da se radi o maloj populaciji i preliminarnom istraživanju, rezultati dobiveni na realiziranom uzorku poslužiti će za procjenu populacijskih parametara.

Osnovna obilježja ispitanika: Najveći udio ispitanih (91 %; n = 21) nositelji su gospodarstva, pri čemu najveći udio ispitanih (56,5 %; n = 13) posjeduje fakultetsko obrazovanje, a 43,5 % ispitanih (n = 10) ima završeno srednjoškolsko obrazovanje. S obzirom na dobnu strukturu, nije detektiran niti jedan sudionik istraživanja mlađi od 20 godina, a više od polovice ispitanih (70 %; n = 16) je u dobi od 20 do 49 godina. Najveći broj ispitanih (n = 12; 52 %) posjeduje vinograde do 3 ha i manje od 5 proizvodnih parcela. Veći dio ispitanih (78 %; n = 18) koristi potpore za vinogradarsku proizvodnju, pri čemu su za njih 13 potpore značajne za financijsku stabilnost gospodarstva. Niti jedan ispitanik vinogradar podatke vezane uz vinograd i proizvodnju (procjena stanja vinograda i okoliša, potrebnih radova i sl.) ne prikuplja isključivo digitalno (snimke mobitelom, dronom, meteorološke postaje, senzori i sl.), već najveći broj (91 %; n = 21) to radi ručno, a tek dvoje ispitanih (9 %) podatke prikuplja i ručno i digitalno (meteorološke postaje). Svi su ispitanici vinogradari potvrdili kako koriste mobilni telefon - smart phone, pri čemu ga svi koriste isključivo za glasovnu komunikaciju i osobne potrebe.

Stav prema NT u vinogradarstvu: Svi su ispitanici vinogradari iskazali sklonost uvođenju noviteta u njihov rad i proizvodnju. Pri tome, najveći broj ispitanih (74 %; n = 17) skloniji je uvođenju noviteta u rad i proizvodnju uz pomoć stručnih osoba, dok bi tek manji dio (22 %; n = 5) novitete u rad i proizvodnju uveli samostalno. Ove rezultate potvrđuju i dosadašnja istraživanja (Daberkow i McBride, 2003., Aubert i sur., 2012., Tey i Brindal, 2012., Pierpaoli i sur., 2013., Kernecker i sur., 2018., Barnes i sur., 2019.), prema kojima su uvođenju NT u proizvodnju bili skloniji oni poljoprivrednici koji su imali dovoljno informacija i stručnu pomoć kako bi uspješno ovladali NT. Prednost korištenja NT u vinogradarskoj proizvodnji mjerena je zasebnim setom indikatora, konstruiranim mjernim instrumentom koji se sastojao od osam tvrdnji navednih u Tablici 1. Tvrdnjama je pridružena ordinalna ljestvica procjene od 5 stupnjeva, na kojoj je manji rezultat označavao manji stupanj slaganja, a veći rezultat veći stupanj slaganja s datim tvrdnjama. Najveći stupanj slaganja detektiran je na tvrdnji po kojoj su NT korisne u vinogradarskoj proizvodnji, dok je relativno najmanji stupanj slaganja detektiran na tvrdnji po kojoj su NT korisnije od do sada korištenih tehnologija/alata u proizvodnji te tvrdnji po kojoj NT smanjuju troškove inputa u proizvodnji. Prosječne vrijednosti, odnosno, prosječni stupanj slaganja s tvrdnjama, prikazan je u Tablici 1.

Tablica 1. Prosječni stupanj slaganja s prednostima korištenja NT

Čestica/tvrđnja	Prosječna vrijednost
NT su korisne u vinogradarskoj proizvodnji.	4,57
NT osiguravaju informacije na osnovu kojih je moguće donijeti kvalitetnije odluke za upravljanje proizvodnjom.	4,09
NT povećavaju produktivnost ako ih se koristi.	4,00
NT olakšavaju radne procese i smanjuju količinu rada vinogradara.	4,00
NT omogućavaju smanjenje štetnih utjecaja vinogradarske proizvodnje na okoliš.	3,96
NT povećavaju prihod vinogradarskog gospodarstva.	3,87
NT su korisnije od do sada korištenih tehnologija/alata u proizvodnji.	3,78
NT smanjuju troškove inputa u proizvodnji ako ih se koristi.	3,78

Faktorizacijom mjernog instrumenta utvrđeno je kako osam analiziranih tvrdnji iz Tablice 1 mjeri jedan predmet mjerenja (Cronbachov Alpha koeficijent pouzdanosti = 0,904). U skladu s navedenim, konstruiran je jednostavni aditivni indeks, zbrajanjem vrijednosti svih osam tvrdnji za svakog pojedinog ispitanika. S obzirom na ostvareni rezultat na skupnom indeksu, ispitanici su podijeljeni u dvije skupine, a  $X^2$  testom je utvrđeno da među njima nema statistički značajne razlike s obzirom na analizirane socio-demografske varijable.

Nastavno na ove rezultate istraživanja, dosadašnja provedena istraživanja na razini EU (Kernecker i sur., 2018.) pokazuju različite stavove poljoprivrednika. Načelno, svi ispitanici se slažu kako su NT u vinogradarskoj proizvodnji korisne te kako se korištenjem NT ne smanjuju troškovi proizvodnje (inputa) i ne povećava prihod gospodarstva, što se najvjerojatnije odnosi na raširenu percepciju među proizvođačima da su NT skupe i u startu zahtijevaju određena financijska sredstva i viša ulaganja (Daberkow i McBride, 2003., Adrian i sur., 2005., Tey i Brindal, 2012., Pierpaoli i sur., 2013., Barnes i sur., 2019.). Ispitani vinogradari smatraju kako će im NT biti korisne u donošenju ispravnih odluka pri upravljanju proizvodnjom što je u načelu i bit korištenja precizne poljoprivrede (Pierce i Nowak, 1999., Zhang i sur., 2002., Pierpaoli i sur., 2013.), dok kod drugih istraživanja opet ima dvojakih razmišljanja (Daberkow i McBride, 2003., Kernecker i sur., 2018.) koja se obrazlažu vlastitim iskustvom poljoprivrednika koji poznaje svoju proizvodnju i smatra kako tehnologija ne može zamijeniti iskustvene metode prikupljanja podataka za odlučivanje o upravljanju proizvodnjom. Primjeri iz istraživanja govore kako precizna poljoprivreda ima važan utjecaj i na okoliš pogotovo kada se govori o korištenju zaštitnih sredstava i gnojiva, uz primjenu tehnologije promjenjive količine (Matese i Di Genaro, 2015.) i ciljane aplikacije, s kojom prednosti korištenja NT se ispitanici vinogradari samo djelomično slažu. To se može objasniti nedovoljnim poznavanjem različitih tehnologija koje su u primjeni i mogućnostima različitih senzorskih praćenja kojima je cilj smanjenje negativnog utjecaja na okoliš kroz precizno doziranje zaštitnih sredstava i gnojiva, ali i nedovoljnom svjesnosti vinogradara o mogućim štetnim utjecajima njihove proizvodnje na okoliš. Kao prednost korištenja NT istaknuta je produktivnost i smanjenje vlastite količine rada i olakšavanja radnih procesa, što je isto kao i u ostalim provedenim istraživanjima (Pierpaoli i sur., 2013., Kernecker i sur., 2018., Barnes i sur., 2019.). Načelno, proizvođači su svjesni da su im dostupni točniji i precizniji podaci koje mogu koristiti za različite analize i planiranja, a sve s ciljem povećanja produktivnosti i smanjenja utroška vlastitog vremena. Ispitani vinogradari smatraju kako NT nisu korisnije od do sada korištenih tehnologija u proizvodnji, što je različito od dosadašnjih istraživanja u kojim se pokazalo kako su poljoprivrednici svjesni pozitivnih učinaka NT (Tey i Brindal, 2012., Aubert i sur., 2012., Kernecker i sur., 2018.) i smatraju ih korisnima za unaprjeđenje svoje proizvodnje. Ovakvo razmišljanje ispitanih vinogradara ponovno se može objasniti nedovoljnom informiranosti o mogućnostima NT, nedostatkom prezentacije učinaka NT te njihovim mišljenjem kako još

nema pogodih NT za njihove potrebe. Dob i razina edukacije vinogradara Zagrebačke županije u ovom istraživanju nisu se pokazale značajnom pri mjerenju stava prema prednostima korištenja NT. Vinogradari svih dobnih skupina i svih razina edukacije jednakog su stava prema prihvaćaju prednosti korištenja NT. Ovaj nalaz potvrđuju i Daberkow i McBride (2003.) koji navode kako dob i edukacija nisu značajno utjecale na stav prema prihvaćanju i korištenju NT.

Razlozi nekorisćenja NT u vinogradarskoj proizvodnji: Gotovo svi ispitanici (91 %, n = 21) navode dva glavna razloga - nedostatak financijskih sredstava za potrebna ulaganja u NT i nedovoljno relevantnih informacija o NT. Ispitani vinogradari smatraju kako su ulaganja u NT iznimno visoka te kako njihovi godišnji prihodi ne bi mogli pokriti takvu razinu ulaganja. Sukladno dosadašnjim istraživanjima (Adrian i sur., 2005., Pierpaoli i sur., 2013., Kernecker i sur., 2018., Barnes i sur., 2019.) visoki troškovi NT u percepciji poljoprivrednika odlučujući su faktor za stav prema korištenju NT, a ekonomska korist glavni pokretač investicija u poljoprivrednoj proizvodnji. Nastavno na to, svi ispitanici vinogradari (100 %, n = 23) odlučili bi se za NT kada bi postojale subvencije za njihovu nabavu. Različiti autori (Tey i Brindal, 2012., Kernecker i sur., 2018., Barnes i sur., 2019.) naglašavaju potrebu za sufinanciranjem NT kako bi njihovo širenje, ali i daljnji razvoj, bilo prihvaćenije i brže od strane poljoprivrednika, koji su i inače neskloni rizičnim ulaganjima. Važno je naglasiti i da bi se u slučaju zajedničkog korištenja određenih NT s ostalim vinogradarima za NT odlučilo njih 96 % (n = 22). Troškovi korištenja NT mogu se minimizirati zajedničkim korištenjem s ostalim proizvođačima, no zajedničko korištenje ovisi o NT koja se nabavlja i za što se koristi. U slučaju ovog istraživanja, za zajedničko korištenje pogodni su dronovi, dok se senzori za tlo i meteorološke stanice postavljaju na određenu površinu i prate mikroklimu određenog vinograda. Potencijalni korisnici NT su i udruženja vinogradara ili skupina vinogradara vođena istim ili sličnim načelima proizvodnje. Nedostatak relevantnih informacija otvara mogućnost za ciljane informacije i demonstracije NT, prilagođene pojedinim proizvođačima i njihovim potrebama. Naime, najvećem broju ispitanih vinogradara (87 %, n = 20) bile su potrebne demonstracije NT prije nego bi se odlučili za korištenje, što je potvrđeno i dosadašnjim istraživanjima (Daberkow i McBride, 2003., Tey i Brindal, 2012., Aubert i sur., 2012., Pierpaoli i sur., 2013., Kernecker i sur., 2018., Barnes i sur., 2019.).

## Zaključak

Ovo istraživanje rađeno je kao preliminarno istraživanje stava profesionalnih vinogradara Zagrebačke županije prema NT te se može zaključiti kako je stav vinogradara prema NT pozitivan, bez obzira na stupanj obrazovanja i dob vinogradara, dok nedostatak financijskih sredstava i relevantnih informacija može biti ograničavajući faktor za korištenje NT. Istraživanje je pokazalo kako su vinogradari skloni uvođenju noviteta u vlastitu proizvodnju i to uglavnom uz pomoć stručnih osoba i uz subvencije za ulaganja, što ostavlja veliki prostor za daljnje širenje upotrebe NT u vinogradima, ali uz pomoć stručnjaka te uz kreiranje odgovarajućih mjera potpore NT u regionalnim i državnim programima potpore. Istraživanje je pokazalo da vinogradari Zagrebačke županije NT ne smatraju korisnijima od sada korištenih te ne vjeruju da im mogu pomoći u smanjenju proizvodnih troškova i inputa, što je svakako stav koji treba pokušati promijeniti kroz informiranje i edukaciju te demonstraciju rada i mogućnosti NT, ali i prikaz koristi koje mogu donijeti NT kroz smanjenje troškova proizvodnje i negativnog utjecaja vinogradarstva na okoliš te unaprjeđenje kvalitete proizvodnje.

## Literatura

- Adrian A.M., Norwood S.H., Mask P.L. (2005). Producers' perceptions and attitudes toward precision agriculture technologies. *Computers and Electronics in Agriculture*. 48 (3): 256-271.
- Aubert B.A., Schroeder A., Grimaudo J. (2012). IT as enabler of sustainable farming: An empirical analysis of farmers' adoption. *Decision Support Systems*. 54 (1): 510-520.
- Barnes A.P., Soto I., Eory V., Beck B., Balafoutis A., Sanchez B., Vangeyte J., Fountas S., Van der Wal T., Gomez-Barbero M. (2019). Exploring the adoption of precision agricultural technologies: A cross regional study of EU farmers. *Land Use Policy*. 80: 163-174.
- Daberkow S.G., McBride W.D. (2003). Farm and Operator Characteristics Affecting the Awareness and Adoption of Precision Agriculture Technologies in the US. *Precision Agriculture*. 4: 163-177.
- Kernecker M., Knierim A., Wurbs A., Kraus T., Borges F. (2018). Peer-reviewed paper Smart-AKIS project. Project: European Agricultural Knowledge and Innovation Systems (AKIS) towards innovation-driven research in Smart Farming Technology. Horizon 2020 Research and Innovation Programme. Raspoloživo: <https://www.smart-akis.com/wp-content/uploads/2019/01/Peer-reviewed-paper.pdf>
- Matese A., Di Genaro S.F. (2015). Technology in precision viticulture: a state of the art review. *International Journal of Wine Research*. 7: 69-81.
- Pierce F.J., Nowak P. (1999). Aspects of Precision Agriculture. *Advances in Agronomy*. 67: 1-85.
- Pierpaoli E., Carli G., Pignatt E., Canavari M. (2013). Drivers of Precision Agriculture Technologies Adoption: A Literature Review. *Procedia Technology*. 8: 61-69.
- Tardáguila J., Blasco J., Diago M.P. (2017). Vinerobot. European Commission, FP7-ICT - Specific Programme "Cooperation": Information and communication technologies, ICT-2013.2.2 - Robotics use cases & Accompanying measures, Call for proposal: FP7-ICT-2013-10. Raspoloživo: <https://cordis.europa.eu/project/rcn/111031/results/en>
- Tey Y.S., Brindal M. (2012). Factors influencing the adoption of precision agriculture technologies: a review for policy implications. *Precision Agriculture*. 13 (6): 713-730.
- Zhang N., Wang M., Wang N. (2002). Precision agriculture - a worldwide overview. *Computers and Electronics in Agriculture*. 36 (2-3): 113-132.

## Attitude of Zagreb county winegrowers towards new technologies for viticulture production monitoring

### Abstract

Important precondition for the use of new viticulture monitoring technologies is the attitude of winegrowers towards new technologies. The acceptance or rejection of innovations depends on the attitude and characteristics of producer. The survey method was used to examine the basic characteristics of professional winegrowers in Zagreb County and their attitude towards the advantages of using new technologies and the reasons for not using it. The results show a positive attitude of winegrowers towards the use of new technologies, regardless of education level and age. The main reasons for not using new technologies are the lack of relevant information and financial resources for investments.

**Key words:** survey, attitudes, new technologies, viticulture, Zagreb County



## Vinarstvo kao nositelj razvoja ruralnog turizma Požeško-slavonske županije

Luka Samardžija<sup>1</sup>, Tihana Sudarić<sup>2</sup>, Ornella Mikuš<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska - doktorand Poslijediplomskog doktorskog studija Poljoprivredne znanosti, smjer Agroekonomika (lsamardzija@vup.hr)

<sup>2</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Cilj istraživanja je ustanoviti odnos turističke ponude Požeško-slavonske županije i sektora vinogradarstva i vinarstva. Detaljnim uvidom u dostupnu literaturu nastoji se dobiti pregled primjera dobre prakse suradnje ove dvije gospodarske grane. Primijećena je disproporcija između turističkog potencijala promatrane regije i uspješnosti realizacije turističke ponude. Prikazano je kako u slučaju vinarstva pronalazimo spoj tradicije, povijesti i zavičajnog duha koji imaju potencijal dati čvrstu osnovu za razvoj turizma, ali i da trenutno stanje odstupa od regionalnih i inozemnih konkurenata.

**Ključne riječi:** turizam, vinarstvo, ruralni razvoj, Požeško-slavonska županija

### Uvod

Ruralnim područjem u Europskoj uniji smatraju se sve lokalne jedinice u kojima je gustoća naseljenosti ispod 150 stanovnika po kilometru kvadratnom (Šimkova, 2007.). Prema Popisu stanovništva, kućanstava i stanova u Republici Hrvatskoj iz 2011. godine, prosječna gustoća naseljenosti u Požeško-slavonskoj županiji (PSŽ) iznosi 42,99 st/km<sup>2</sup> (Županijska razvojna strategija). Uz iznimku nekoliko gradova, govorimo o načelno ruralnom području.

Prema Svjetskoj turističkoj organizaciji četiri su ključna elementa koji determiniraju ruralni turizam. To su prirodni ruralni resursi (rijeke, jezera, planine, šume i dr.), ruralni način života (obrti, lokalni događaji, gastronomija, tradicionalna glazba i sl.), ruralno nasljeđe (tradicionalna arhitektura, povijest, dvorci, crkve, sela i sl.) i ruralne aktivnosti (jahanje, lov, ribolov, pješačenje, biciklizam, vodeni sportovi i čitav niz aktivnosti na otvorenom) (UNWTO, 2004.). Ruralni turizam počiva na interakciji poljoprivredne proizvodnje, proizvodnje tradicionalnih proizvoda, prezentiranja tradicije, tradicijske gastronomije, ukratko, korištenju već postojećih resursa (Mišćin, 2008.). Navedeni elementi čine identitet određene regije, a on definira osnovu njezine turističke ponude. U literaturi pronalazimo više oblika ruralnog turizma: turizam na seljačkim gospodarstvima, lovni, ribolovni, ekoturizam, zdravstveni, sportsko-rekreacijski, rezidencijalni (kuće za odmor), avanturistički, kamping turizam, nautički turizam, gastronomski, vinski, kulturni turizam, vjerski turizam i ostali posebni oblici (Balkan, 2014.). Osnovni element održivog razvoja ruralnog turizma je proces koji omogućuje njegov rast i razvoj bez oštećivanja i iscrpljivanja onih faktora na kojima se temelji, a to su, prije svega zdrava klima, nezagađeni zrak, tlo i voda, odsutnost buke, odsutnost potencijalnih opasnosti od elementarnih nepogoda, očuvana priroda, očuvano graditeljsko nasljeđe, očuvane socio-kulturne značajke, slikoviti krajobraz i mogućnost slobodnog kretanja turista (Kušen, 2006.).

Pojam vinski turizam opisuje putovanje motivirano posebnim interesom koji se bazira na želji obilaska vinogradarskih regija ili prilikom putovanja poduzetih zbog drugih razloga posjete vinske regije (Getz i sur., 2007.). Turizam je gospodarska grana koja se oslanja na resurse lokaliteta u kojem djeluje. Turistička ponuda gradi se na prirodnim resursima, proizvodima i infrastrukturi zajednice, a povratno potpomaže lokalno gospodarstvo povećanjem broja osoba koje privlači.

### **Materijali i metode**

Istraživanju se pristupilo pregledom objavljenih radova dostupnih u bazama stručnih i znanstvenih radova. Prilikom izrade ovog preglednog rada korištena je obuhvatna literatura iz područja istraživanja te su se koristile metode indukcije, dedukcije analize i sinteze rezultata istraživanja. U izradi rada nije bilo provedeno primarno istraživanje nego su korišteni sekundarni izvori podataka.

### **Rezultati i rasprava**

#### **Karakteristike ruralnog turizma Požeško-slavonske županije**

Površine 1.815 četvornih kilometara i nešto više od 85.800 stanovnika, Požeško-slavonska županija ubraja se u red manjih županija u Republici Hrvatskoj. Prema podacima Agencije za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju (APPRRR, 2020.) 44.956,04 ha ukupne površine županije odnosi se na poljoprivredne površine, odnosno 58,9 %. U 2019. godini bilo je 5.072 obiteljskih poljoprivrednih gospodarstva odnosno 97,2 % od ukupnih poljoprivrednih subjekata u županiji (APPRRR, 2020.). Požeško-slavonska županija je izrazito bioraznolika, te ju karakteriziraju osobiti ekološki, klimatski i geomorfološki uvjeti, a osim ravnica značajnu strukturu čine planine, vinogradi i šume koje zauzimaju 45,26 % prostora županije (82.153 ha) (Zmaić i sur., 2020.).

Promatrano s teritorijalnog aspekta, vinogradarstvo i vinarstvo Požeško-slavonske županije (PSŽ) pripada regiji Slavonija i hrvatsko Podunavlje, podregiji Slavonija te se sastoji od tri vinogorja: Kutjevo, Pakrac i Požega-Pleternica. Potrebno je istaknuti posebnost da najbolje kutjevačke vinogradarske površine dijele geografsku širinu od 45°20' N sa svjetski poznatim bordoškim, provansalskim i pijemontskim vinorodnim područjima (Jogun, 2015.).

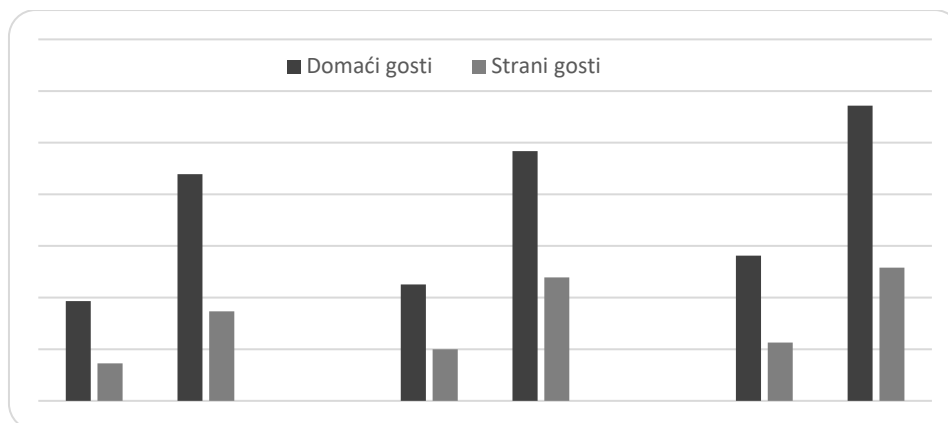
Godine 2018./2019. vinari i vinogradari PSŽ proizveli su 83.708,17 hektolitara vina što na nacionalnoj razini, u usporedbi s ukupnom proizvodnjom stavlja PSŽ na peto mjesto u odnosu na proizvodnju vina ostalih županija s 11,43 % ukupne proizvodnje vina u Republici Hrvatskoj. Ukupna površina nasada vinograda u PSŽ iznosila je 1.490,72 ha odnosno 7,83 % ukupne nacionalne količine uzgoja vinove loze (Vinogradarski registar, 2020.).

#### **Vinski turizam u Požeško slavonskoj županiji**

Vinova loza s vinogradarstvom predstavlja kultivirani dio identiteta određenoga (ruralnog) područja (Mirošević i sur., 2008.). Gospodarsku granu vinarstva na području Republike Hrvatske opisuje dugogodišnja tradicija. Točno vrijeme nije precizno definirano te varira od brončanog ili željeznog doba od kada su narodi koji su živjeli na prostoru današnje Republike Hrvatske poznavali vinovu lozu, ali u Panoniji uzgoj započinje tek u vremenu poslije Krista (Zaninović, 1996.). Vino je neupitno strateški poljoprivredno prehrambeni proizvod Republike Hrvatske, te je ukupna domaća potrošnja vina oko 1 002 000 hektolitara dok je samodostatnost proizvodnje vina 80 %. Iako je Republika Hrvatska zanimljivo tržište

za sve veći broj uvoznika, ona ima potencijala za izvoz pojedinih vina, odnosno sorata vinove loze (Sudarić i sur., 2019.).

Analizom dostupnih podataka koje na godišnjoj razini izdaje Hrvatska turistička zajednica (HTZ, 2016.-2020.) i Zavod za statistiku (DSZ, 2016.-2020.) primijećeno je da se u periodu između 2016. i 2019. godine bilježi kontinuirani rast u sektoru turizma. Broj dolazaka i noćenja svake godine raste.



Grafikon 1. Broj dolazaka i noćenja Požeško-slavonska županija

Sukladno rastu broja posjetitelja u 2019. godini, bilježi se porast broja smještajnih kapaciteta te broj ležajeva iznosi 894 od čega 19 u hotelima (HTZ, 2019.). Iako su indikatori rasta neosporni, usporedba s ostalim županijama pokazuje kako u promatranom periodu PŽS zauzima posljednje drugo najslabije mjesto po broju dolazaka gostiju (Tablica 1).

Tablica 1. Broj ležajeva u hotelima po županijama (HTZ, 2019.)

Županija	2016.	2017.	2018.	2019.
Istarska	3.763	4.104	4.333	4.482
Splitsko-dalmatinska	2.737	3.160	3.474	3.657
Primorsko-goranska	2.598	2.789	2.910	2.966
Dubrovačko-neretvanska	1.598	1.864	2.015	2.237
Zadarska	1.362	1.559	1.664	1.752
Grad Zagreb	1.109	1.286	1.400	1.454
Šibensko-kninska	817	923	965	1.009
Ličko-senjska	621	736	789	821
Karlovačka	279	333	353	364
Krapinsko-zagorska	124	142	161	178
Zagrebačka	75	87	123	140
Osječko-baranjska	89	92	99	108
Međimurska	45	70	76	82
Varaždinska	52	61	71	81
Vukovarsko-srijemska	69	89	81	80
Sisačko-moslavačka	29	37	39	38
Brodsko-posavska	26	29	34	37
Bjelovarsko-bilogorska	20	23	25	24
Koprivničko-križevačka	18	19	20	19
Požeško-slavonska	11	13	16	19
Virovitičko-podravka	12	14	18	17
<b>UKUPNO</b>	<b>15.454</b>	<b>17.430</b>	<b>18.666</b>	<b>19.566</b>

Potrebno je napomenuti kako iskazani podaci daju indikativnu, a ne konkluzivnu sliku stvarnog stanja zbog činjenice kako ne bi bilo razborito uspoređivati PSŽ sa županijama koje imaju izlaz na more te svakako trebali isključiti usporedbu s gradom Zagrebom. Ako tako usporedimo podatke i dalje ostaje činjenica kako je PSŽ jedna od najslabije posjećenih županija, no njezin zaostatak za susjednima nije nedohvatan. Prema dostupnim podacima vidljivo je da je trenutno u izradi Strategija marketinškog plana turizma Slavonija s planom brendiranja za razdoblje 2019. - 2025. godine. Sukladno do sada dostupnim podacima opisne sastavnice, odnosno jedinstvene osobine mjesta prema smjernicama HTZ-a, kreću se u rasponu od posebnosti prirodnog okoliša (ravničarski zavičaj idealan za aktivni odmor u obliku cikloturizma), do etnokulturnih posebnosti kao što su autohtona tradicionalna hrana i vinska kultura s bogatih vinogorja (Završki i Horvat, 2019.).

Vinski turizam može se definirati s obzirom na to tko putuje u vinarije i što doživljavaju vinski turisti na tim odredištima. Vinski turisti mogu biti ili jednodnevni putnici iz bližih polaznih točaka ili noćni posjetitelji izvan bližeg područja. Oni pokazuju mješavinu demografskih karakteristika, ali često su kombinacija domaćih i inozemnih putnika koji predstavljaju relativno visoku socioekonomsku razinu u pogledu obrazovanja, prihoda i struke. U smislu psiholoških motivacija, vinski turist je u početku definiran kao neko tko ima želju kušati vino i iskusiti geografski prostor u kojem se vino proizvodi (Alant i Bruwer 2004.). Vinski turizam nudi razumno jeftin kanal distribucije za prodaju vina i pridruženih proizvoda izravno potrošačima (Getz i Brown, 2006.). Suradnja između poduzeća prepoznata je kao važna za uspjeh pojedine vinarije, vinske regije i nacionalne vinske industrije (Mitchell i Hall 2006.).

### **Zaključak**

Usprkos tomu što trenutno bilježi, u odnosu na ostale županije kontinentalne Hrvatske, nizak broj noćenja, mogućnosti razvoja turističke ponude su perspektivne. Institucionalno vodstvo nad ostvarivanjem ciljeva strategije i razvoja turizma vodi Turistička zajednica PSŽ zajedno s Turističkim zajednicama gradova. Nažalost, brojevi indiciraju kako još uvijek nije postignut sinergijski učinak ove ekonomske grane vinarstva i ruralnog turizma. Vinogradari bi mogli koristiti prepoznatljivost regije u kojoj se nalaze dok regija povećava prepoznatljivost kvalitetom vinara koji ju čine. Taj proces može imati kontinuiranu interakciju između svih koji sudjeluju te mogu osigurati održivost razvoja zajedničkih ciljeva. U trenutku izrade ovog rada takav obostrani sinergijski odnos još uvijek nije postignut.

### **Literatura:**

- Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju (2020.) Vinogradarski registar za 2020. godinu.
- Alant K., Bruwer J. (2004). Wine Tourism Behaviour in the Context of a Motivational Framework for Wine Regions and Cellar Doors. *Journal of Wine Research*. 15 (1): 25-35.
- Balkan R. (2014). Oblici ruralnog turizma i činitelji razvoja ruralnog turizma. *Visoka škola za menadžment u turizmu i informatici*, 13.
- Getz D., Brown G. (2006). Critical success factors for wine tourism destinations. *Tourism Management*. 27 (1): 146-15.
- Getz D., Carlsen J., Brown G., Havitz M. (2007). Wine Tourism and Consumers. In A.G. Woodside, & D. Martin (Eds.), *Tourism Management: Analysis, Behaviour and Strategy* UK: CABI.
- Hrvatska Turistička zajednica (2020): Turizam u brojkama. Ministarstvo turizma Republike Hrvatske.
- Jogun T. (2015). Novija prostorna difuzija vinograda u vinogorju Kutjevo. *Acta Geographica Croatica*. 40: 37-62.

- Kušen E. (2006). Turizam i rekreacija. Zagreb: Institut za turizam.
- Mirošević N., Karoglan Kontić J. (2008). Vinogradarstvo – udžbenik. Zagreb: Nakladni zavod Globus.
- Mišćin L. (2008.). Aktualno stanje turizma na ruralnom prostoru Hrvatske. Zagreb: Sektor za turizam HGK.
- Mitchell R., Hall C.M. (2006). Wine Tourism Research: The State of Play. *Tourism Review International*. 9 (4): 307-332.
- Sudarić T., Zmaić K., Deže J., Kristić J., Bašić Palković M. (2019). Mogućnosti održivog razvoja ruralnog turizma Požeško-slavonske županije. Zbornik radova 54. hrvatskog i 14. međunarodnog simpozija agronoma, Mioč B., Širić I. (ur.) Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet Zagreb, 163-167.
- Šimokova E. (2007). Strategic approaches to rural tourism and sustainable development of rural areas. *Agric. Econ.* 53 (6): 263-270.
- UNWTO (2004). *Rural Tourism in Europe: Experiences, Development and Perspectives*. Madrid: UNWTO.
- Zaninović M., (1996). *Iliri i vinova loza. Od Helena do Hrvata*. Zagreb: Školska knjiga.
- Zmaić K., Kušec G., Sudarić T., Đurkin Kušec I., Kranjac D. (2020): Analiza potencijala i razvoja poljoprivredne proizvodnje u Požeško-slavonskoj županiji - nacrt projekta.
- Završki M., Horvat K. (2019). Uloga i utjecaj e-marketinga u turizmu Slavonije i Baranje *Communication Management Review*. 5 (1): 104-123.

## **Winemaking as a carrier of rural tourism development in Požega-Slavonia county**

### **Abstract**

The aim of the research is to establish the relationship between the tourist offer of Požega-Slavonia county and the sector of viticulture and winemaking. A detailed insight into the available literature seeks to obtain an overview of examples of good practice in cooperation between these two industries. A disproportion between the tourist potential of the observed region and the success of the realization of the tourist offer was noticed. It is shown that in the case of winemaking we find a combination of tradition, history and local spirit that have the potential to provide a solid basis for tourism development, but also that the current situation differs from regional and foreign competitors.

**Key words:** tourism, winemaking, rural development, Požega-Slavonia county

## Točka pokrića u maslinarskoj proizvodnji na primjeru hercegovačkog OPG-a

Ivan Spužević<sup>1</sup>, Božana Miličević<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Mostaru, Biskupa Čule bb, Mostar, Bosna i Hercegovina (ivan.spuzevic@gmail.com)*

<sup>2</sup>*Oliva d.o.o., Prćavci bb, Čapljina, Bosna i Hercegovina*

### Sažetak

Cilj rada je bio izračunati točku pokrića maslinarske proizvodnje u Hercegovini koristeći se podacima s OPG-a. Temeljem tehnoloških i ekonomskih polazišta izrađena je naknadna kalkulacija koja je bila podloga za izračunavanje točke pokrića, kao i osnovnih ekonomskih pokazatelja proizvodnje. Kod količine proizvodnje od 260,4 l maslinovog ulja ostvaruje se ukupni prihod od 6.510 KM, koji je dostatan za pokriće ukupnih troškova prikazane proizvodnje. Gledano u postocima potrebno je ostvariti 55,4 % od ukupne proizvedene količine ulja za izlazak iz zone gubitka. Pozitivan financijski rezultat kao i vrijednosti ekonomskih pokazatelja pokazuju da je maslinarska proizvodnja u stadiju pune rodnosti stabala uspješna, pod pretpostavkom postizanja očekivanog priroda ploda, randmana ulja i uspješne prodaje.

**Ključne riječi:** točka pokrića, maslinarska proizvodnja, amortizacija, ekonomičnost, rentabilnost.

### Uvod

Slobodno se može reći da se u posljednjih desetak godina u Hercegovini dogodio novi početak maslinarstva. Povijest maslinarstva u Hercegovini još je nedovoljno obrađena i istražena tema. Podaci o maslinarskoj proizvodnji u prošlosti, odnosno o njenim počecima su vrlo šturi. Kao što se već pretpostavlja, prvi tragovi maslinarske proizvodnje u Hercegovini protežu se još iz doba grčkih i rimskih naseobina. Možemo zaključiti da se zbog posebnosti submediteranskog pojasa, u koji spada južni i jugozapadni dio Hercegovine, tako značajna kultura iz doba starih Grka i Rimljana vjerojatno uzgajala. Iz perioda Otomanskog carstva postoje i pisani podaci, te se navodi da je ali-paša Rizvanbegović, potaknut primjerom Sulejman-bega Kapetanovića iz Vitine, podigao u okolici grada Stoca nasad maslina.

Točnih podataka trenutačnog stanja u maslinarstvu, odnosno broja stabala maslina na području Hercegovine nema. Kao što je već rečeno tek zadnjih par godina se intenzivnije krenulo u podizanje nasada maslina kao i prerađivačkih kapaciteta. Činjenica je da se nalazimo u jeku relativno visokih investicija u maslinarstvu, tako da je nezahvalno navoditi trenutačno stanje. Prema neslužbenim podacima Federalnog agromediteranskog zavoda u Mostaru do sada je podignuto oko 300 ha maslinika, što bi bio ekvivalent za oko 60 000 stabala maslina. Također treba istaknuti da su uglavnom svi novi maslinici kao i uljare podignuti u skladu sa stručnim savjetima: od odabira lokaliteta, izbora sorte, agrotehničkih mjera i tehnologije prerade maslina. U prilog ovoj tvrdnji ide i činjenica o brojnim nagradama koje su osvojili hercegovački maslinari, što je bilo nezamislivo prije desetak godina (Noćnjak, 2019.).

Maslinarska proizvodnja, zbog svojih specifičnosti, izložena je brojnim rizicima s manjim ili većim utjecajem na poslovanje OPG-ova, a najvažniji su: proizvodni, tržišni, financijski, pravni, ljudski i tradicionalni. Onim maslinarima koji su tržišno orijentirani potrebne su

relevantne informacije o ekonomskim učincima njihove proizvodnje. Model točke pokrića je važan analitički instrument koji se koristi prilikom analize poslovanja, te kao takav ima veliki utjecaj na poslovno odlučivanje.

Točka pokrića je razina proizvodnje u kojoj su prihodi i rashodi izjednačeni, može se izraziti u odnosu na ostvareni promet i na količinu učinka. Značajna je jer nam određuje razinu proizvodnje i prodaje pri kojoj poslujemo bez profita, ali i bez gubitka. Izračun točke pokrića stavlja u odnos troškove, količinu proizvodnje ili prodaje i prihod. Označava pokriće ukupnih troškova. Za točku pokrića se zbog toga često upotrebljava termin prag rentabilnosti, jer signalizira zonu u kojoj poslovanje poduzeća postaje rentabilno. Analizom točke pokrića može se doći i do “sigurnosnih koeficijenata” koji pokazuju koliko poslovni subjekt može podnijeti djelovanje nepovoljnih utjecaja na poslovanje (smanjenje proizvodnje, pad prometa, sniženje prodajnih cijena, povećanje nabavnih cijena inputa, itd.), a da ne posluje sa gubitkom (Gugić i sur., 2009.).

### Materijal i metode

Maslinik je smješten na lokalitetu u južnoj Hercegovini, u okolici grada Čapljine. U uvjetima intenzivne poljoprivredne proizvodnje, zbog tehnologije, tehnike i organizacije proizvodnje dolazi do rasta fiksnih troškova u masi ukupnih troškova. Time se javlja potreba za iznalaženjem takvog obima i strukture proizvodnje kojim će se postići najpovoljniji ekonomski rezultati poslovanja. Temeljem dobivenih podataka izrađena je kalkulacija pokrića varijabilnih troškova proizvodnje maslina, koja je nakon izrade poslužila za izračunavanje točke pokrića, cijene koštanja, kao i za izračun osnovnih ekonomskih pokazatelja u proizvodnji maslina. Kalkulacija pokrića varijabilnih troškova pogodna je za otkrivanje pogrešaka u upravljanju proizvodnjom te za potrebe planiranja proizvodnje u poljoprivredi (Karić, 2002.). Ova kalkulacijska metoda još se u literaturi naziva analiza doprinosa pokrića, a u stvari predstavlja razliku između ukupnog prihoda i varijabilnih troškova (Majcen, 1988.). Nakon oduzimanja fiksnih troškova od doprinosa pokrića dobiva se financijski rezultat.

### Rezultati i rasprava

Tehnološka polazišta za izradu modelne kalkulacije pokrića varijabilnih troškova maslinarske proizvodnje su:

- starost maslinika: puna rodnost,
- sastav sortimenta: oblica, leccino i pendolino,
- površina maslinika: 1 ha,
- broj stabala: 277

U tehnološkim polazištima pretpostavljen je koncept dobre poljoprivredne prakse, koji je nastao u razvijenim zemljama kao protuteža opasnostima od ekoloških kriza. U tom konceptu najveća pozornost se pridaje racionalnoj uporabi gnojiva i sredstava za zaštitu bilja. Prirod ploda je izračunat kao proizvod priroda po stablu i broja stabala, dok je količina proizvedenog ulja okarakterizirana 15 % randmanom.

Tablica 1. Prirod ploda i proizvodnja ulja

Elementi	Količina
Prirod ploda, kg/stablu	11,2
Prirod ploda, kg/ha	3.130
Proizvodnja ulja, l (randman 15%)	470
Proizvodnja ulja, kg	431

Izvor: autori

Nakon izračuna priroda ploda po 1 ha, ukupne količine dobivenog ulja i njegove prodajne cijene (25 KM/l), izračunat je i ukupan prihod, i to na način zbrajanja prihoda od prodaje ulja i državnih poticaja.

Tablica 2. Struktura ukupnog prihoda

Struktura ukupnog prihoda	
Prihod od prodaje ekstra djevičanskog maslinovog ulja	11.750,00
Prihod od poticaja	837,00
<b>Ukupan prihod</b>	<b>12.587,00</b>

Karakteristika varijabilnih troškova je da počinju s proizvodnjom i mijenjaju se ovisno o stupnju iskorištenja proizvodnih kapaciteta. U modelu kalkulacije pokriva varijabilnih troškova proizvodnje maslina obuhvaćeni su sljedeći varijabilni troškovi: troškovi materijala, varijabilni dio troškova vlastite mehanizacije, troškovi ljudskog rada i troškovi prerade ploda. Od fiksnih troškova, u kalkulaciji su prikazani sljedeći troškovi: amortizacija osnovnih sredstava (maslinik, sustav za navodnjavanje, mehanizacija i oprema), obvezni doprinosi za stalno uposlone, porez na dohodak i ostali troškovi.

Tijekom poslovanja OPG stvara vlastite izvore sredstva za ulaganje. U pravilu to su sredstva amortizacije. Pri utvrđivanju amortizacije primjenjuje se linearni obračun, što znači da se na nabavnu vrijednost pojedinog osnovnog sredstva primjenjuje zakonski propisana minimalna godišnja stopa amortizacije u svim godinama vijeka trajanja tog sredstva. Stopa amortizacije se obračunava po sljedećoj formuli:

Nakon popisa osnovnih sredstava i obračuna amortizacije temeljem stopa, njen ukupan iznos je bio 2.045,00 KM.

Tablica 3. Kalkulacija pokriva varijabilnih troškova

PVT (DP)	Jedinica mjere	Jedinična cijena KM	Količina	Iznos KM
Prirod ploda	kg		3.130	
Prihod od proizvodnje ulja (randman 15 %)	l	25	470	11.750,00
Prihod od poticaja				837,00
<b>UKUPAN PRIHOD</b>				<b>12.587,00</b>
1. Materijal				1.494,00
2. Rad strojeva	sat		117	
3. Ljudski rad	sat		746	
Ostalo	sat		15	
4. Usluge prerade	kg	0,35	3.130	1.095,00
<b>UKUPNI VARIJABILNI TROŠKOVI</b>				<b>2.589,00</b>
PVT (DP)				9.998,00
<b>UKUPNI FIKSNI TROŠKOVI</b>				<b>5.078,00</b>
PVT 1				4.920,00

Predmetno obiteljsko gospodarstvo posjeduje vlastitu mehanizaciju, a troškovi te mehanizacije su obračunati i prikazani kroz amortizaciju, dok su tekući troškovi mehanizacije prikazani u troškovnoj stavci materijal. Troškovi vlastite radne snage su valorizirani kroz dohodak OPG-a. U prikazanoj kalkulaciji pokriva varijabilnih troškova doprinosi pokriva i financijski rezultat su izračunati na sljedeći način (Jelavić, 1993.):

$$DP=UP-VT$$



gdje je:

DP-doprinos pokrića (pokriće varijabilnih troškova)

UP-ukupni prihod

VT-ukupni varijabilni troškovi

Izrađena kalkulacija pokrića varijabilnih troškova je poslužila za izračunavanje cijene koštanja po jedinici proizvoda:  $CK=UT/Q$ .

U točki pokrića ukupni prihodi su jednaki ukupnim troškovima ( $UP=UT$ ), a točka pokrića se dobije računski pomoću sljedećih obrazaca (Jelavić, 1993.):

Ako se  $UT$  iz prethodne jednadžbe prikaže kao zbroj ukupnih fiksnih i ukupnih varijabilnih troškova sljedeća jednadžba će izgledati:

$$UP=FT+VT$$

FT – fiksni troškovi

VT – varijabilni troškovi

Prethodna relacija dopušta mogućnost da se ukupni fiksni trošak izrazi kao razlika ukupnog prihoda i ukupnog varijabilnog troška na sljedeći način:

$$FT=UP-VT$$

Uz pretpostavku da su prosječni varijabilni troškovi i prodajna cijena konstantni prethodna jednadžba se može napisati kao:

$$FT=Q \times (pc-vt)$$

Q – prodana količina proizvoda u l

pc – prodajna cijena

vt – prosječni varijabilni trošak ( $VT/Q$ )

I konačna jednadžba u kojoj su ukupni prihod i ukupni trošak jednaki:

$$Q=FT/(pc-vt)$$

Q – točka pokrića, a može se obilježiti i kao

a) Izračun točke pokrića s amortizacijom:

$$TP=5.078,00/((25-5,5)=260,4 \text{ litara})$$

Pri izračunavanju točke pokrića često se doprinos pokrića po jedinici proizvoda pretvara u stopu doprinosa pokrića (sdp) koja se računa na način da podijelimo doprinos pokrića ( $dp=pc-vt$ ) s prodajnom cijenom proizvoda (pc).

$$Sdp=dp/(pc=19,5/(25=0,78))$$

Pomoću stope doprinosa pokrića se može izračunati točka pokrića vrijednosno:

$$TP=FT/(sdp=5.078,00/(0,78=6.510,00 \text{ KM}))$$

$$TP \%=260,4 \div 470 \times 100=55,4\%$$

b) Izračun točke pokrića bez amortizacije:

$$TP=3.033,00/((25-5,5)=155,5 \text{ litara})$$

$$TP=FT/(sdp=3.033,00/(0,78=)) 3.888,5 \text{ KM}$$

$$TP\%=155,5 \div 470 \times 100=33,09 \%$$

Nakon što se izračunaju veličine (FT,vt,Q), uvrštavaju se u zakonitost točke pokrića, odnosno u polaznu i izvedenu jednadžbu:  $UP=UT$

$$Q \times pc=FT+vt \times Q$$

$$260,4 \times 25=5.078,00+5,5 \times 260,4$$

$$6.510,00 \text{ KM}=6.510,00 \text{ KM}$$

U ekonomskoj literaturi se obično razmatraju tri temeljna ekonomska mjerila uspješnosti poslovanja a to su proizvodnost rada, ekonomičnost i rentabilnost poslovanja. Ekonomski pokazatelji su izračunati sa i bez troškova amortizacije jer amortizacija spada u nenovčani izdatak, te kao fiksni trošak ima ulogu poreznog štita koji smanjuje osnovicu poreza na dohodak OPG-a. Po Šamanović (1993.) za izračunavanje ovih ekonomskih pokazatelja se koriste sljedeće formule:

$$\begin{aligned} \text{Proizvodnost rada (P)} &= (\text{količina učinka (Q)}) / (\text{količina rada (R)}) \\ \text{Ekonomičnost (e)} &= (\text{vrijed. ostvareni učinci (VP)}) / (\text{ukupni troškovi proizvod.}) / (\text{UT}) \\ \text{Rentabilnost (r)} &= (\text{poslovni rezultat (dobit)}) / (\text{uloženi kapital} \times 100) \end{aligned}$$

Pozitivne vrijednosti ovih ekonomskih pokazatelja pokazuju da je proizvodnja maslina i maslinovog ulja iz maslinika u punoj rodosti uspješna, ali pod pretpostavkom postizanja očekivanog prinosa ploda, randmana ulja i njegove uspješne prodaje. Ukupan prihod ili vrijednost proizvodnje maslinovog ulja se sastoji od prihoda prodaje maslinovog ulja i prihoda od poticaja. Računa se po sljedećoj formuli:

$$UP = Q \times pc$$

Razlika između ukupnog prihoda i ukupnih troškova proizvodnje će dati financijski rezultat prikazan u sljedećoj formuli:

$$FR = UP - UT$$

Tablica 5. Ekonomski pokazatelji proizvodnje i prerade maslina

Ekonomska veličina/pokazatelj	Vrijednost
Poslovni rezultat (dobit)	4.920,00
Poslovni rezultat (dobit) (bez amortizacije)	6.965,00
Proizvodnost rada (lit. ulja po satu)	0,92
Ekonomičnost	1,6
Ekonomičnost bez amortizacije	2,2
Rentabilnost poslovanja %	39,09
Rentabilnost bez amortizacije %	55,33
Cijena koštanja (KM/l)	16,3
Cijena koštanja bez amortizacije (KM/l)	12,0

### Zaključak

Ekonomske veličine i pokazatelji kalkulirani su sa i bez iznosa amortizacije jer je amortizacija obračunski, tj. nenovčani izdatak sa značajkom poreznog štita koji se obračunava i smanjuje osnovicu poreza na dohodak. U analitičkom modelu trošak po jedinici proizvoda iznosi 16,3 KM/l ili 12,0 KM/l bez amortizacije s proizvodnošću rada od 0,92 l/h. Pozitivne vrijednosti ekonomskih pokazatelja ekonomičnosti (1,6) i rentabilnosti poslovanja (39,09 %) pokazuju da je proizvodnja maslina u punoj rodosti ekonomična i rentabilna pod pretpostavkom postizanja očekivanog priroda ploda, randmana ulja i njegove uspješne prodaje. Potrebno je istaknuti da dobiveni rezultati vrijede isključivo pod navedenim pretpostavkama i mogu poslužiti samo kao orijentacija maslinarima u planiranju i donošenju poslovnih odluka u procesu upravljanja maslinarskom proizvodnjom.

## Literatura

- Barbarić M., Raič A., Karačić A. (2011). Priručnik iz Maslinarstva. Mostar: Federalni agromediteranski zavod.
- Grgić Z., Par V., Juračak J., Njavro M., Šakić B. (2006). Management u poljoprivredi. Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Grabovac N. (2002). Zbirka zadataka sa rješenjima iz upravljanja trgovinskim poduzećima. Fojnica: Štamparija Fojnica, d.o.o.
- Gugić J., Par J., Njavro M. i Dvornik-Gosaić J. (2009). Primjena modela točke pokrića za poslovno odlučivanje u proizvodnji maslina. *Pomologia Croatica* 15 (3-4): 95-114.
- Hadelan L., Njavro M. (2012). Uprava poljoprivrednih gospodarstava. Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Jelavić A., Ravlić P., Starčević A., Šamanović J. (1993). Ekonomika poduzeća. Zagreb: Ekonomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Karić M. (2002). Ekonomika Poduzeća. Osijek: Ekonomski fakultet u Osijeku.
- Koutsoyiannis A. (1996). Moderna Mikroekonomika. Zagreb: Mate d.o.o.
- Majcen Ž. (1988). Troškovi u teoriji i praksi. Zagreb: Informator.
- Matić M. (2009). Agro ekonomski pojmovnik u poslovnom svijetu. Mostar: Sveučilište u Mostaru.
- Par V., Šakić Bobić B. (2016). Uvod u mikroekonomiju, skripta. Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za menadžment i ruralno poduzetništvo.
- Samuelson A. P., Nordhaus W. (2011). Ekonomija. Zagreb: Mate d.o.o.
- Statistički godišnjak/ljetopis Federacije Bosne i Hercegovine, 2019.  
<https://www.neum.ba/index.php/2019/03/13/nocnjak-2019-21-medunarodna-manifestacija-maslinara-i-uljara/>

## Break-even point in olive production on the example of a Herzegovinian family farm

### Abstract

The aim of the paper was to calculate the break-even point of olive production in Herzegovina using data from a family farm. Subsequent calculation, performed based on technological and economic starting points, was the basis to calculate the break-even point, as well as basic economic indicators of production. The total revenue of 6,510 KM, which is sufficient to cover the total costs of the presented production, is realised with the production of 260.4 l of olive oil. Viewed as a percentage, 55.4% of the total produced oil should be realised to come out of loss. The positive financial result and economic indicator values show that olive production is successful in the stage of full tree productivity, on the assumption of realising the expected fruit yield, oil extraction percentage and successful sales.

**Key words:** break-even point, olive production, depreciation, economy, profitability

## Sinergijsko djelovanje agro-klastera i turizma

Tihana Sudarić<sup>1</sup>, Martina Matuš<sup>2</sup>, Krunoslav Zmaić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (tihana.sudaric@fazos.hr)

<sup>2</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska - studentica diplomskog studija Agroekonomika

### Sažetak

Upravljanje poljoprivredom, turizmom i ruralnim razvojem trebalo bi se temeljiti na javno-privatnom partnerstvu. Poljoprivredni klasteri su strateško interesna udruženja malih i srednjih poduzetnika u bliskoj korelaciji sa znanstveno-obrazovnim sektorom te javnim nadležnim institucijama. Ujedno, oni su i regionalno koncentrirani subjekti koje ostvaruju djelatnosti koje su slične, povezane ili se međusobno nadopunjuju. Cilj rada je bio utvrditi utjecaj agro-klastera na sinergiju poljoprivrede i turizma, s posebnim naglaskom na razvoj dodane vrijednosti u poljoprivrednoj proizvodnji. Istraživanje je provedeno metodom ankete te je ispitano 43 % članova Agro-klastera d.o.o. iz Vukovarsko-srijemske županije. Prema istraživanju u radu koje je temeljeno na analizi primarnih i sekundarnih izvora podataka, proizlaze zaključci koji argumentiraju prednosti članstva u klasterima, a to je olakšana prodaja i marketing poljoprivrednih proizvoda, nova znanja i vještine kao i razvoj nove dodane vrijednosti poljoprivrednih proizvoda.

**Ključne riječi:** obiteljska poljoprivredna gospodarstva, turizam, klasteri, poljoprivreda

### Uvod

Obiteljska poljoprivredna gospodarstva u Republici Hrvatskoj kao individualni gospodarski subjekti suočavaju se sa zajedničkim problemom, a to je tržišna (ne)konkurentnost. Zemljišni posjed, koje poljoprivrednici obrađuju su premali, a još su dodatno i podijeljeni u veliki broj malih parcela, tako da danas obiteljska gospodarstva imaju prosječno 4,3 parcele veličine oko 0,60 ha. Takvi mali poljoprivredni proizvođači ne mogu zadovoljiti količine proizvoda koje traže veliki trgovački centri, no ne mogu se nositi s europskom pa i svjetskom konkurencijom (Japundžić, 2014.). Samostalan nastup poljoprivrednog gospodarstva na zahtjevnim poljoprivredno-prehrambenim tržištima izrazito je obuhvatan te u konačnici najčešće rezultira neefikasnošću poslovanja. Potrebu za interesnim udruživanjem, osobito klasterom kao najkompetentnijim oblikom u poljoprivrednoj djelatnosti ističe Perić (2014.) koji navodi da snažna konkurencija stranih poduzeća i mnogobrojne promjene u poslovanju zahtijevaju sve veću potrebu prihvaćanja novih organizacijskih i poslovnih oblika kao što su klasteri te kako je niska konkurentnost temeljni problem i prepreka hrvatskom gospodarskom razvoju. Poljoprivredni klasteri, najčešće djeluju kroz Triple-helix model, a mogu se definirati kao strateško interesno udruženje malih i srednjih poduzetnika (privatni sektor) u bliskoj korelaciji sa znanstveno-obrazovnim sektorom (instituti, fakulteti i sl.) te javnim nadležnim institucijama koje podupiru egzistiranje klastera na svom području (županija, općina/grad i sl.), a sve s ciljem zajedničkog prosperiteta u cjelini. Interesno udruživanje prednost je za daljnji rast i razvoj, kako gospodarskih subjekata tako i ruralne zajednice. Potrebu za takvim razmišljanjem u pogledu ruralnog razvoja i agroturizma spominje Tubić (2019.) te smatra kako poljoprivrednici koji se interesno umrežavaju samim time stvaraju i poljoprivrednu destinaciju s više različitih atrakcija, a osim impliciranja većeg stupnja turističke atraktivnosti za prostor potencira se i veća ekonomska korist za zajednicu

i pružatelje usluga. Agroturizam kroz sinergiju poljoprivrede i turizma može ponuditi lokalne proizvode i autentična iskustva kraja ili mjesta, što je jedna od novih preporuka UNWTO (2020.) jer prema analizama UNWTO trendovi u potražnji imaju kontinuirani rast za autentičnim iskustvima, autohtonom kulturom, te individualnim posjetima koji nisu vezani za sezonalnost te kao takav, agroturizam ima sve veću razvojnu perspektivu jer obuhvaća i „zeleni“ pristup u svim fazama turističkog iskustva što postaje značajan trend u potražnji u svim gospodarski razvijenim zemljama. Sinergija turizma i poljoprivrede bit će uspješna samo ako se usvoji i provede sveobuhvatna inkluzivna strategija planiranja koja se temelji na participativnom pristupu i multiresornoj suradnji i aktivnosti svih dionika.

## Materijal i metode

Cilj rada bio je utvrditi utjecaj agro-klastera na sinergiju poljoprivrede i turizma. Istraživanje je provedeno u Vukovarsko-srijemskoj županiji (VSŽ) te su se anketirali subjekti iz Agro-klastera d.o.o. Istraživanje je provedeno metodom ankete, a kao instrument za prikupljanje podataka korišten je upitnik. Naime, Agro-klastera d.o.o. krovna je tvrtka koja povezuje 60 proizvođača, obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava s područja Vukovarsko-srijemske županije te ih okuplja u šest pojedinačnih klastera ovisno o proizvodnji:

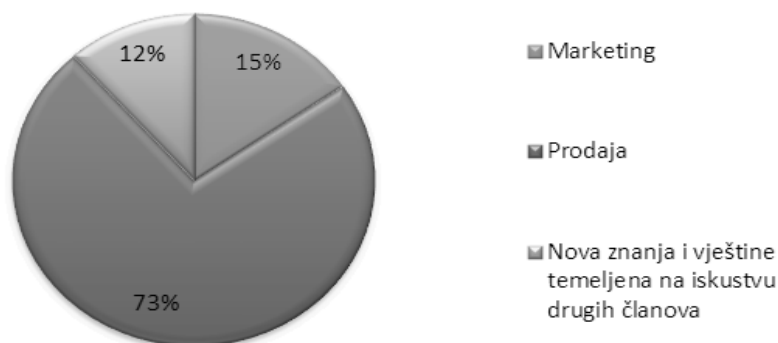
- Klaster proizvođača jaja VSŽ
- Klaster proizvođača mesa i mesnih proizvoda VSŽ
- Klaster proizvođača sira VSŽ
- Klaster proizvođača voća i voćnih proizvoda VSŽ
- Klaster proizvođača orašastih plodova VSŽ
- Klaster proizvođača lubenica VSŽ

Istraživanje je provedeno na prigodnom uzorku od 26 ispitanika kroz odgovarajući niz standardiziranih pitanja čije je cilj bio ispitati stavove i mišljenja poljoprivrednih proizvođača tvrtke Agro-klastera d.o.o. o diversifikaciji proizvoda/usluga i stvaranja dodanih vrijednosti, kao i povezanosti poljoprivrede i turizma.

## Rezultati i rasprava

Klasterizacija kao proces ujedinjenja, zajedništva i međusobne potpore kroz sve vidove poslovanja (pravni, obrazovni, iskustveni) pruža određenu razinu sigurnosti za sve svoje dionike. Klasteri su regionalno koncentrirani subjekti koje ostvaruju djelatnosti koje su slične, povezane ili se međusobno nadopunjuju (Sudarić i sur., 2007.) Može li Republika Hrvatska pridonijeti revitalizaciji ruralnog prostora čiji temelj počiva na jedinstvu i zajedništvu malih i srednjih poduzetnika koji svojim radom na gospodarstvima doprinose sebi, kao članovi neke od zajednica pridonose i drugima, a samim time i nacionalnom gospodarstvu? Ističući pozitivne strane klasterizacije, Grafikon 1 prikazuje kako članovi tvrtke Agro-klastera d.o.o. najveće prednosti sudjelovanja u klasteru vide upravo u dijelu prodaje (73 %), zatim marketinga (15 %) te u novim znanjima i vještinama koja mogu steći od ostalih gospodarstvenika (12 %). Navedeni odgovori mogu potvrditi olakšani pristup u pronalaganju tržišnog prostora putem klastera u odnosu na obiteljsko gospodarstvo koje želi samostalan nastup.

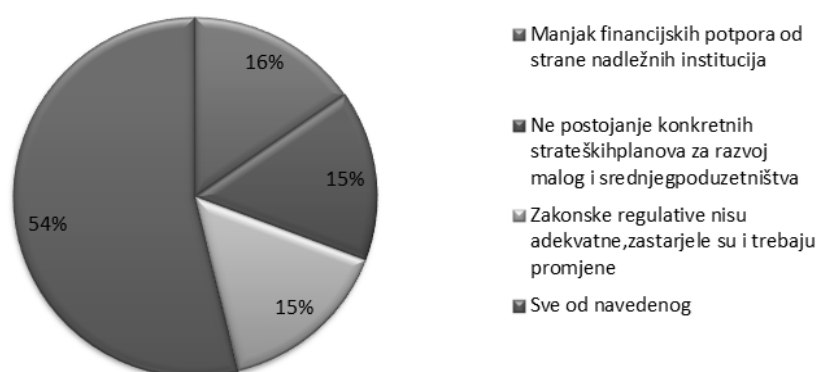
Naime, ujedinjenje više srodnih proizvođača može stvoriti obuhvatniju ponudu kroz zajedničko djelovanje, a samim time i zadovoljiti veću potražnju, no proces pronalaska odgovarajućih poljoprivredno-prehrambenih tržišta, dogovaranje uvjeta prodaje/nabave, briga o kontinuitetu, sljedivosti i sličnim procedurama je zahtjevan posao koji pripada u domenu nadležnosti klastera.



Grafikon 1. Prednosti članstva u klasteru

Izvor: Matuš, 2020.

Nadalje, kao konstantan problem za poljoprivrednike nameću se zakoni, regulative i brojni pravni nameti koji „guše“ poljoprivrednika čiji je primaran posao proizvodnja hrane, ali ga organizacijske i logističke barijere mogu u tome spriječiti i otežati poslovanje što može rezultirati prestankom proizvodnje. Upravo taj problem istaknut je na Grafikonu 2 na kojem se može vidjeti izraženo nezadovoljstvo članova klastera (54 % ispitanika dalo je odgovor „sve od navedenog“) s ponuđenim potencijalnim problemima za daljnji rast i razvoj gospodarstava, ali i klastera kao zajednice jer probleme vide u nedostacima koji se trebaju korigirati na institucionalnim razinama.

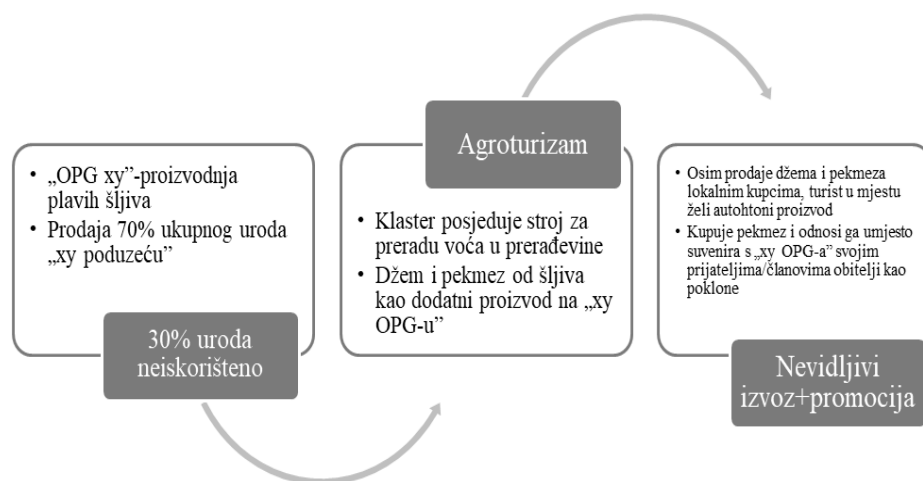


Grafikon 2. Ograničavajući čimbenici u razvoju poljoprivrednih gospodarstava

Izvor: Matuš, 2020.

Nastavno na analizirano, Sudarić i sur. (2010.) obrađujući tematiku interesnih povezivanja, osvrću se na prethodno navedeni problem te ističu kako nedovoljne državne mjere onemogućavaju daljnji brži razvoj i konkurentnost na primjeru poljoprivrednog zadruge što smanjuje interes za takvim oblikom poslovnog povezivanja, a koji bi trebao biti u funkciji zaposlenosti, povezanosti, izvozne orijentiranosti, povećanih ulaganja i slično. Nakon utvrđenih svojevrsnih snaga i slabosti klasterizacije iz perspektive članova tvrtke Agroklaster d.o.o., istraživanjem se također pokušalo utvrditi interes članova o bavljenju agroturizmom kao dopunskom djelatnošću i stvaranjem „value-add“ efekata na imanju obzirom da im se članstvom u klasteru otvaraju nove mogućnosti. Slika 1 prikazuje kako se potencijalno može primijeniti sinergija poljoprivrede i turizma posredništvom klastera. Uloga klastera je i da olakša horizontalnu i vertikalnu diversifikaciju poljoprivrednih proizvoda, odnosno da proširi paletu proizvodnog programa. U anketnom upitniku, članovi

Agro-klastera smatraju (81 %) da je takav koncept primjenjiv što je prikazano na Slici 1, na koju su se referirali u istraživanju.



Slika 1. Sinergija poljoprivrede i turizma posredništvom klastera

Izvor: Matuš, 2020.

Povezivanje poljoprivrede i turizma moguće je jedino kroz okrupnjavanje poljoprivredne proizvodnje (kroz klaster ili druga interesna povezivanja), odnosno imajući određenu kvalitetu, kvantitetu i kontinuitet isporuke koja je potrebna za razvoj turističke destinacije.

Kako su već ranije ispitanici naveli da im je procesom klasterizacije najveća prednost prodaja, Tubić (2019.) navodi da je spektar motiva za ulazak u projekt agroturizma šarolik, ali onaj najpoticajniji je bolja prodaja poljoprivrednih proizvoda i nusproizvoda jer omogućava izravnu prodaju uz minimalne troškove i najvišu prodajnu cijenu, štoviše predstavlja stvaranje zadovoljavajućeg dodatnog izvora prihoda prodajom proizvoda s dodanom vrijednošću. Istraživanje je pokazalo kako postoji interes za bavljenje turizmom te kako je turizam privlačna dodatna djelatnost za ispitanike koji su se odazvali na anketni upitnik, pa je tako 23 od 26 ispitanih na Likertovoj skali od 1 do 5 dalo visoke ocjene 4 i 5 kao potvrđan odgovor na izjavu „Turizam je odlična prilika za prodaju proizvoda direktnim putem na OPG-u kao i potencijalni samo-promocijski instrument“. Ono što se može reći da sigurno nedostaje je formalno obrazovanje, edukacije turističkih djelatnika, seminari, te prezentacije koje bi uputile potencijalne buduće kreatore agroturističke ponude u prednosti i nedostatke nove djelatnosti te kako početi i razvijati različite ideje u segmentu turizma.

## Zaključak

Nacionalne, regionalne i lokalne vlasti, u suradnji s privatnim sektorom i zajednicama, trebale bi provoditi koncept „pametnih destinacija“ u ruralnim područjima na temelju pet osnova: upravljanje, inovacije, tehnologija, dostupnost i održivost. U svim ovim segmentima klasteri trebaju imati dominantnu ulogu. Istraživanje u radu je temeljeno na analizi primarnih i sekundarnih izvora podataka te su se izdiferencirale prednosti sudionika klastera kroz olakšanu prodaju i marketing poljoprivrednih proizvoda. Naime, marketing i promocija ujedno imaju i važnu ulogu u samopouzdanju stanovnika jer stvaraju osjećaj ponosa zajednice. Uspješne promocije trebale bi imati za cilj rast potražnje i potrošnje, ali i osiguravanje poštivanja odredišta, zadovoljstva posjetitelja i ulaganja. Većina ispitanika (88,4 %) smatra kako je turizam odlična prilika za prodaju proizvoda, a kako im podrška klastera olakšava poslovanje u organizacijskom i logističkom smislu. Za stvaranje novih mogućnosti za diversifikaciju i dodanu vrijednost proizvoda i usluga u ruralnim područjima

potreban je holistički pristup koji uključuje sve ostale sektore i aktivnosti u turističkom lancu vrijednosti i promiče javno-privatno partnerstvo otpornog i održivog sektora što klasteri omogućavaju kroz svoje poslovanje.

### **Napomena**

Ovaj rad nastao je na temelju istraživanja provedenog u okviru diplomskog rada Martine Matuš pod nazivom „Diversificiranje proizvoda i usluga slavonskih poljoprivrednih gospodarstava kroz turizam i interesno udruživanje“, obranjen 24. srpnja 2020. godine na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

### **Literatura**

- Japundžić M., Japundžić-Palenkić B. (2014). Klaster kao mogući oblik udruživanja poljoprivrednih proizvođača. Zbornik radova Veleučilišta u Slavanskom Brodu. **5** (1): 47-54.
- Matuš M. (2020). Diversificiranje proizvoda i usluga slavonskih poljoprivrednih gospodarstava kroz turizam i interesno udruživanje. Diplomski rad, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Osijek.
- Perić V. (2014). Klasteri kao instrument regionalnog i gospodarskog razvoja Hrvatske. Zbornik radova Prve međunarodno-stručne konferencije „Fedor Rocco“ iz područja marketinga i komunikacije, Grmuša T (ur.), 46-58. Zagreb, Hrvatska: Visoka poslovna škola Zagreb s pravom javnosti.
- Sudarić T., Zmaić K., Štruglin G. (2010). Kvalitativna i kvantitativna obilježja poljoprivrednih zadruga u Osječko-baranjskoj županiji. Zbornik radova 45. hrvatskog i 5. međunarodnog simpozija agronoma, Marić S. i Lončarić Z. (ur.), 318-322. Opatija, Hrvatska: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Sudarić T., Zmaić K., Petrač B. (2007). Regional Clusters in a Function of Rural Development in Croatia. Proceedings of Plenary Papers and Abstracts of 100th Seminar of the EAAE: "Development of Agriculture and Rural areas in Central and Eastern Europe", Tomić D. i Ševarlić M. (ur.), 545-552. Zemun, Srbija: Serbian Association of Agricultural Economists.
- Tubić D. (2019). Ruralni turizam - od teorije do empirije. Virovitica, Hrvatska: Visoka škola za menadžment u turizmu i infomatici u Virovitici.
- UNWTO (2020). Raspoloživo: <https://www.unwto.org/news/world-tourism-day-2020-global-community-unites-to-celebrate-tourism-and-rural-development>

## **Synergy of agricultural clusters and tourism**

### **Abstract**

Agriculture and tourism management including rural development should be based on public-private partnership. Agricultural clusters are strategically interesting associations of small and medium-sized enterprises in close correlation with the scientific and educational sector and public institutions. At the same time, they are regionally concentrated entities that carry out activities that can be similar, correlated or complementary. The main goal of this paper was to determine the impact of agro-cluster on the example of Agro-klaster d.o.o. through the synergy of agriculture and tourism with special review on the development of added value in agricultural production. The research was conducted by the survey method and 43 % of the members of Agro-cluster d.o.o. were examined from Vukovar-Srijem County. The research, which is based on the analysis of primary and secondary data sources, differentiated the advantages of cluster membership, which facilitated the sale and marketing of agricultural products, new knowledge and skills, as well as the development of „value-add“ agricultural products.

**Key words:** family farms, tourism, clusters, agriculture



## Mogućnosti razvoja poljoprivrednih gospodarstva kroz mjere iz Programa ruralnog razvoja Republike Hrvatske

Tihana Sudarić<sup>1</sup>, Krunoslav Zmaić<sup>1</sup>, Ivan Janić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (tihana.sudaric@fazos.hr)

<sup>2</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska – student poslijediplomskog sveučilišnog (doktorskog) studija Poljoprivredne znanosti, smjer Agroekonomika

### Sažetak

Poljoprivredna gospodarstva suočavaju se s problemima održivog rasta i razvoja. Razvoj poljoprivrednih gospodarstava treba se temeljiti na iskorištavanju resursa kroz mjere iz Programa ruralnog razvoja. Cilj rada je prepoznati i analizirati iskoristivost mjere 6 iz Programa Ruralnog razvoja na području Republike Hrvatske. U radu se koristila komparativna analiza iskoristivosti mjera 6.3. Potpora razvoju malih poljoprivrednih gospodarstava i 6.1. Pokretanje poslovanja mladim poljoprivrednicima. Obilježja mjera 6 su da omogućuju pokretanje poljoprivredne proizvodnje mladim poljoprivrednicima i razvoj postojećih gospodarstava. Mjere su sastavni dio strategije razvoja poljoprivrede kroz Program Ruralnog razvoja.

**Ključne riječi:** program ruralnog razvoja, mjera 6, održivost, potpore u poljoprivredi

### Uvod

Politika regionalnog razvoja ima za cilj doprinijeti gospodarskom razvoju Republike Hrvatske, stvaranjem preduvjeta za održivi rast i razvoj ruralnog kraja. Prema Defilippis (1993.) ruralni prostor ima puno mogućnosti za razvoj na temelju inovativnosti i pravilne systemske organizacije poljoprivrednog gospodarstva. Predmet rada će biti istraživanje mogućnosti razvoja poljoprivrednog gospodarstva. Prema strategiji regionalnog razvoja (Program MRRFEU, 2017.) poljoprivredna gospodarstva predstavljaju temelj agrarnog razvoja u Republici Hrvatskoj. Strategija razvoja poljoprivrede temelji se na poljoprivrednim gospodarstvima. Prema Petrač (2000.) svako gospodarstvo ima opći i specifični cilj u željenim segmentima. Opći cilj koji je definiran se odnosi na poboljšanje životnog standarda i zaustavljanje iseljavanja ruralnog stanovništva. Specifični cilj definirati će mogućnost korištenja potpornih sredstava za razvoj poljoprivrednih gospodarstava. Plan razvoja gospodarstva temelji se na ulaganju u fizičku imovinu, povećanje proizvodnih kapaciteta i modernizaciju poslovanja. Prema Programu Ruralnog razvoja (Program EAFRD, 2020.) mikro i srednja poljoprivredna gospodarstva su temelj razvoja ruralnog kraja Republike Hrvatske. U radu će se istraživati mogućnosti i prilike financiranja mikro poljoprivrednih subjekata u izvanrednim okolnostima kroz Program ruralnog razvoja Republike Hrvatske. Prema navodima iz Zakona o poljoprivredi (NN br. 66/2001. i br. 83/2020.) definirani su temeljni ciljevi poljoprivredne politike u ruralnom sektoru: domaći konkurentski proizvodi, primjereni životni standard, stabilan odnos cijene, kvalitete i cijene hrane, promicanje ruralnog kraja i povećanje životnog standarda. Na temelju ciljeva definirati će se poticajne prilike za daljnji ruralni razvitak poljoprivrednih gospodarstava u RH.

## Materijal i metode

Cilj rada bio je identificirati i analizirati načine i smjernice različitih aktivnosti u funkciji poticanja razvoja poslovanja poljoprivrednih gospodarstava kroz iskoristivost mjere 6 koja je sastavni dio Programa ruralnog razvoja 2014. - 2020. Razvoj ruralnih krajeva prema (Program EAFRD, 2020.) programu ruralnog razvoja Republike Hrvatske obuhvaća mjere koje za cilj imaju povećanje konkurentnosti hrvatske poljoprivrede, šumarstva i prerađivačke industrije, ali i unapređenje životnih i radnih uvjeta u ruralnim područjima.

U radu su analizirani podaci mjera 6.3. Potpora razvoju malih poljoprivrednih gospodarstava i 6.1. Pokretanje poslovanja mladim poljoprivrednicima. Istraživanje o mogućnostima i iskoristivosti potpornih sredstava temelje se na podacima Godišnjih izvješća o provedbi PRR RH za razdoblje od 2014. - 2020. godine, te Izvješćima Agencije za plaćanje u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju (APPRRR). Od svih tipova mjera ove su u fokusu s obzirom da se ruralna gospodarstva u RH sastoje od uglavnom malih i srednjih poslovnih subjekata s potencijalom stvaranja novih radnih mjesta te razvoja postojećeg poslovanja.

## Rezultati i rasprava

Pojam ruralni razvoj uključuje integralni i višesektorski potrajni razvoj ruralnih krajeva. Prema Franić (2002.) posljedica različitih vanjskih utjecajnih čimbenika, proces ruralnog razvitka postaje sve važnijom gospodarskom temom. Proces razvoja ruralnog kraja suočava se s brojnim problemima kao što su iseljavanje stanovništva, starenja stanovništva te općenito loša gospodarsko-ekonomska situacija u jugoistočnom dijelu Europe. Održivost odnosno potrajnost je ključna komponenta razvojnog procesa na poljoprivrednom tržištu. Održivost je također bitna za kontinuirani i postojani rast društva, gospodarstva i okoliša u cjelini. U slučaju nedovoljnog razvoja ruralnog kraja, posljedice će dovesti do nestabilnih fluktuacija u društvenom, gospodarskom i političkom sektoru. Prema Zmaić i sur. (2011.) ruralni krajevi su zahvaćeni ekonomskom krizom koja je uzrokovana uzročno posljedičnom gospodarsko-političkom krizom. Također, poljoprivredna zemljišta su usitnjena i neracionalno korištena, a gospodarstva koja imaju proizvodnju suočavaju se sa konkurencijom na domaćem i međunarodnom tržištu.

Prema (EAFRD, 2020.) od početka provođenja Programa ruralnog razvoja u RH pa sve do kraja 2018. godine Hrvatska je započela s provedbom 18 mjera koje se sastoje od 39 podmjera i 82 tipova operacija. Tipovi operacija su programirani kroz 15 žarišnih područja unutar 6 prioriteta. Ukupna predviđena sredstva za PRR RH za 2014. - 2020. iznose 2.026.222.500 EUR. Do kraja 2018. godine odobreno je ukupno 1.402.685.783 EUR, odnosno 59 % dostupnih javnih sredstava. Do sada je isplaćeno 701.746.773 EUR što čini 29 % od ukupno dostupnih javnih sredstava za započete operacije. Od početka provođenja PRR RH alocirano je za Prioritet 2 709.003.025 EUR, od čega je za žarišno područje 2B alocirano 54.339.689 EUR (TOP 6.1.1.) dok je za žarišno područje 2A alocirano 590.135.000 EUR (TOP 6.3.1.). Ovo istraživanje je provedeno prema podacima iz Godišnjih izvješća o provedbi PRR u RH.

Analiza stanja iskoristivosti sredstava iz Programa ruralnog razvoja RH za razvoj poljoprivrednih gospodarstava ogledala se u kvantitativnim pokazateljima kroz broj poslanih zahtjeva, broju odbijenih zahtjeva, broju odobrenih zahtjeva, iznosu alociranih sredstava za mjeru 6 (tip operacija 6.3.1. i 6.1.1.) za razdoblje 2015. - 2017. godine.

Tablica 1. Iskoristivost sredstava iz PRR RH u okviru mjere 6.3. za razdoblje 2015. - 2017.

	2015.	2016.	2017.
Broj odobrenih projekata	996	0	1346
Broj odbijenih projekata	479	0	2843
Broj poslanih projekata	1475	0	4189
Broj isplaćenih projekata	670	0	1346

Izvor: <https://ruralnirazvoj.hr/>

Prema podacima navedenim u Tablici 1 vidljivo je da broj projekata ima različitu fluktuaciju za promatrano razdoblje. Iz podataka možemo vidjeti kako je u prvoj mjeri 6.3. koja je objavljena u 2015. godini ukupno 1475 poslanih zahtjeva, a od toga je 70 % (996) odobrenih, a 30 % (479) odbijenih. Broj korisnika koji su dobili sredstva je 80 % (670) od ukupnog broja odobrenih projekata. 2016. godina je specifična jer nije bilo objavljenih mjera. Podaci za 2017. godinu pokazuju kako je poslano 4189 projekata što je za 80 % porast u odnosu na 2015. godinu. Od ukupno poslanih zahtjeva u 2017. godini odobreno je 45 % (1346) što je povećanje za 30 % u odnosu broj odobrenih projekata u 2015. godini. Broj korisnika koji su dobili sredstva u odnosu na 2015. godinu je pokazao rast za 110 % (1346). Općenito, u analizi se može vidjeti porast iskorištenosti sredstava u promatranom razdoblju. Korisnici ove vrste operacija su mala poljoprivredna gospodarstva koja imaju mogućnost financiranja svih aktivnosti koja se odnose na unapređenje i modernizaciju poslovanja. Iz navedenih podataka za promatrano razdoblje se može zaključiti kako postoji napredak u iskoristivosti potpora u poljoprivredi.

Tablica 2. Iskoristivost sredstava iz PRR RH u okviru mjere 6.1. za razdoblje 2015. - 2017.

	2015.	2016.	2017.
Broj odobrenih projekata	282	0	813
Broj odbijenih projekata	150	0	0
Broj poslanih projekata	432	0	813
Broj isplaćenih projekata	223	0	813

Izvor: <https://ruralnirazvoj.hr/>

Prema podacima navedenim u Tablici 2 vidljivo je da broj projekata ima različite fluktuacije za promatrano razdoblje. Iz podataka možemo vidjeti kako je u prvoj mjeri 6.1. koja je objavljena u 2015. godini ukupno 432 poslanih zahtjeva, a od toga je 60 % (282) odobrenih, a 30 % (150) je odbijenih. Broj korisnika koji su dobili sredstva je 60 % (223) od ukupnog broja odobrenih projekata. 2016. godina je specifična jer nije bilo objavljenih mjera. Podaci za 2017. godinu pokazuju kako je poslano 813 projekata što je za 150 % porast u odnosu na 2015. godinu. Od ukupno poslanih zahtjeva u 2017. godini odobreno je 100 % (813) što je povećanje za 150 % u odnosu na broj odobrenih projekata u 2015. godini. Broj korisnika koji su dobili sredstva u odnosu na 2015. godinu je pokazao rast za 300 % (813). Općenito, u analizi se može vidjeti porast iskorištenosti sredstava u promatranom razdoblju. Korisnici ove vrste operacija su mladi poljoprivrednici koji imaju mogućnost financiranja svih aktivnosti koje se odnose na pokretanje poljoprivredne proizvodnje. Bitno je za spomenuti kako je izražen postotak porasta potpore koji se odnose na mlade poljoprivrednike koji su temelj poljoprivredne proizvodnje. Iz navedenih podataka za promatrano razdoblje se može zaključiti kako postoji prilika za napredak u iskoristivosti potpora u poljoprivredi.

## Zaključak

Rezultati istraživanja pokazuju da potpore iz PRR RH daju doprinos rastu i razvoju poljoprivrednih gospodarstava. Identificiranjem i analizom stvarnih problema stvaraju se preduvjeti za iskoristivost potpora koje su dostupne u okviru mjera iz PRR RH. Predmet ovog rada je bio pokazati uspješnost razvoja poljoprivrednih gospodarstava u primjeru iskoristivosti kroz dvije potpore iz mjere 6 PRR RH. Rezultati istraživanja iskoristivosti dviju mjera 6.3. Potpora razvoju malih poljoprivrednih gospodarstava i 6.1. Pokretanje poslovanja mladim poljoprivrednicima pokazali su veliki interes od strane poljoprivrednika. Možemo zaključiti kako je uočen veliki porast zanimanja za potpore u promatranom razdoblju. Također, može se vidjeti i porast broja odobrenih zahtjeva te kako je alociran veći broj novčanih sredstava u odnosu na to što su mjere objavljivane u dva ciklusa. Ove vrste operacija ukazuju na mogućnost i priliku za sve vrste poljoprivrednika kako bi unaprijedili i modernizirali svoje poslovanje. Program ruralnog programa je poticajnog karaktera i pruža priliku za razvoj malih poljoprivrednika.

Iz istraživanja se može uvidjeti kako poljoprivreda postaje bitan činitelj u gospodarskom razvoju. Proučavanjem načina kako se program provodi dolazimo do zaključka kako se stvaraju temelji za dugoročni održivi rast i razvoj hrvatskog gospodarstva. Dugoročni održivi razvoj ruralnih područja je strateški cilj gospodarskog razvoja Republike Hrvatske. U ovoj situaciji koja je uzrokovana gospodarsko-ekonomskim zbivanjima, prilike i prednosti treba prepoznati, analizirati stanje na terenu te krenuti u realizaciju zadanih ciljeva. Ovaj način gledanja razvoja pojedinačnog gospodarstva je jedini način za ostvarivanje općih ciljeva koji se odnose na poboljšanje životnog standarda i zaustavljanje iseljavanja stanovništva iz ruralnog kraja.

## Literatura

- Agencija za plaćanje u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju (2011): Vodič kroz zajedničku poljoprivrednu politiku. Zagreb: APPRRR.
- Defilippis J. (1993). Upravljanje integralnim razvitkom ruralnih područja. Sociologija sela. 1/2 (119/120): 1-5.
- Franić R. (2006). Politika ruralnog razvitka - Nova prilika za Hrvatsku. Agronomski glasnik. 68 (3): 221-235.
- Ministarstvo poljoprivrede (2015). Program ruralnog razvoja Republike Hrvatske za razdoblje 2014. - 2020.
- Petrač B. (2000). Agrarna ekonomika. Osijek: Ekonomski fakultet u Osijeku.
- Potpore razvoju malih poljoprivrednih gospodarstva iz programa ruralnog razvoja Republike Hrvatske za razdoblje 2014. - 2020. (NN 42/15).
- Zmaić K., Sudarić T., Tolić S. (2011.). Održivost i diverzifikacije ruralne ekonomije. 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture, 341-345.
- <https://ruralnirazvoj.hr/program/godisnja-izvjesca-o-provedbi/>
- <http://www.europski-fondovi.eu/eafrd?page=0%2C3%2C1%2C1>
- <https://ruralnirazvoj.hr/files/documents/Program-ruralnog-razvoja-Republike-Hrvatske-za-razdoblje-2014.-2020.-ver.-5.3.pdf>

## **Possibilities for the development of agricultural holdings through measures under the Program of Rural Development**

### **Abstract**

Agricultural holdings have problems of sustainable growth and development. The development of agricultural holdings should be based on the use of resources through measures from the Rural Development Program. The aim of this paper is to identify and analyze the usefulness of measures 6 of the Rural Development Program in the Republic of Croatia. In the paper a comparative analysis of the usability of the measures 6.3. Support for the development of small agricultural holdings and 6.1. Starting a business for young farmers was applied. The characteristics of measures 6 are that they enable the start of agricultural production for young farmers and the development of existing farms. Measures are an integral part of the agricultural development strategy through measures from the Rural Development Program.

**Key words:** program of rural development, measure 6, sustainability, tenders in agriculture

## Promoting digital innovation: Identifying the key elements in agricultural open data ecosystem in Croatia

Dragica Šalamon<sup>1</sup>, Martina Tomičić Furjan<sup>2</sup>, Alen Džidić<sup>1</sup>, Filip Varga<sup>1,3</sup>, Larisa Hrustek<sup>2</sup>, Bastiaan van Loenen<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetošimunska 25, Zagreb, Croatia, (dsalamon@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Faculty of Organization and Informatics, University of Zagreb, Pavlinska 2, Varaždin, Croatia*

<sup>3</sup>*Centre of Excellence for Biodiversity and Molecular Plant Breeding, Svetošimunska 25, Zagreb, Croatia*

<sup>4</sup>*Faculty of Architecture and the Built Environment, Knowledge Centre Open Data, Delft University of Technology, Julianalaan 134, Delft, Netherlands*

### Abstract

Open data is critical for digital innovation in the sector of agriculture. We aimed to identify the four key elements of the open data ecosystem for the agricultural domain in Croatia. 357 data files available via the Croatian Open data portal, the internet pages of the Ministry of agriculture, the Croatian agency for agriculture and food, as well as the Paying Agency for Agriculture, Fisheries and Rural Development were analysed. The main G2B publishers of the agriculture domain have not yet reached their potential in opening data. There are still many raw and aggregated datasets not openly available. The published data lack a suitable format for data linking and information on licencing.

**Key words:** open data, agriculture, ecosystem elements, publisher, dataset

### Introduction

As the basis of digital transformation, access to more comprehensive data with broad usage capabilities enables innovation for the progress of the European economy and the betterment of citizens (Davies, 2012). European and Croatian strategic logistics and legislation for the opening and reuse of data as an institutional framework for the implementation of open data policy has been developing intensively since 2013 (Musa et al., 2018). In 2018, a code of conduct was developed for the exchange of agricultural data under the contract, and in 2019, EU Member States signed a declaration of cooperation "A smart and sustainable digital future for European agriculture and rural areas", which recognises the potential of digital technologies for the agricultural sector and rural areas and supports the establishment of data spaces.

Given the projected global increase from 33 zettabytes of open data in 2018 to 175 zettabytes of open data in 2025 (Gens et al., 2017) the current European Data Strategy predicts a near doubling in the number of data experts in the EU since 2018 (to 10.9 million), as well as an increase in the population with basic digital skills from 57% to 65%. The value of the data economy in the EU is estimated at EUR 829 billion Euro in 2025, representing almost a triple from 2018 (EC, 2020). The expected reversal of the processing and analysis of data from centralized computing infrastructure to network-edged computing by 2025 (Panetta, 2016) will provide additional opportunities for data manufacturers to manage the data generated and a new perspective for the development of SMEs' and MMEs' products and services. For this reason, a significant impact on the way production, consumption and life is expected from rationalized energy consumption, better traceability of products, materials

and food, to a healthier life. The strategy highlights the importance of SMEs, and increasing the functionality of G2B ("government to business") and B2G ("business to government") and B2B ("business to business") data exchange (EC, 2020). Innovation based on open access to data and open use and reuse of data between sectors will also contribute to the European Green Plan.

The priority sector for addressing issues such as connectivity, data processing and storage, computing power and cybersecurity is precisely the European agricultural information space within which a European neutral platform for the exchange and assembly of agricultural data is planned into repositories, including private and public data. The role of sector data spaces is to foster the development of an open data ecosystem (businesses, civil society and individuals) where new products and services are created on the basis of more accessible data. For the precise and tailored application of production approaches at farm level, it is necessary to strengthen digital, in particular data, literacy in the sector (EC, 2020; Šalamon et al., 2021). The flow of production data, in particular in use with other data from agricultural but other sectoral data sources is essential for agricultural production. For the agriculture sector, they include socio-economic, legislative and administrative, environmental and natural resources data (Šalamon, 2019).

As technologies and innovations arise on the basis of open data, not the other way around (Musa et al., 2018), the limiting factor in the early development of the open data ecosystem in the agriculture sector is the amount of open data and repositories. With a focus on the G2B principle, we decided to identify key elements of the open data ecosystem (Zuiderwijk et al., 2014) of the agricultural sector in Croatia and to assess their status in order to provide input to the next steps towards an open data ecosystem in the agriculture sector in Croatia.

## Material and methods

The very definition of the open data ecosystem as a functional whole and cyclically sustainable system of people, practices, values and technologies, which make up the infrastructure of open data within a narrower context is still in development (Zuiderwijk et al., 2014; van Loenen et al., 2018). Therefore we decided to focus on the four key elements of the open data ecosystem according to Zuiderwijk et al. (2014): (i) open online data repositories; (ii) search, assessment, review of data and licences; (iii) cleaning, analysis, enrichment and visualisation of data; (iv) interpretation, discussion and feedback to the data provider and other stakeholders.

From the G2B perspective, the data sets of the agricultural sector were analysed, in a narrow sense and without the analysis of policy acts, heralds and proceedings, available through the following repositories: (i) the Open Data Portal of the Republic of Croatia (<https://data.gov.hr/>) in the thematic field of Agriculture, forestry and fisheries; (ii) the website of the Ministry of Agriculture (<https://poljoprivreda.gov.hr/>); (iii) the website of the Croatian Agriculture and Food Agency (<https://www.hapih.hr/>), and (iv) the website of the Paying Agency for Agriculture, Fisheries and Rural Development (<https://www.apprrr.hr/>), in relation to the number of documents available and the publishers of datasets.

The search, assessment and review element of data and licenses includes: (i) an analysis of access options; (ii) information on the data format (raw or aggregated; and the format and size of the files). The third element is the purification of raw data, analysis, enrichment, visualization and connectivity. For the fourth key element of the ecosystem, the ability to provide feedback to a publisher that publishes a particular set of data has been analysed.

## Results and discussion

A total of 357 files (5.95 GB) available from four publishers were analysed, and over ten databases and related applications from these publishers were listed. On its website, the largest number of files are provided by the Ministry of Agriculture of the Republic of Croatia (202 analysed), while the Payment Agency offers the largest amount of data open through downloadable files on the account of spatial data (5.1 GB). In addition to the Ministry, the Croatian Agency for Agriculture and Food, and the Agency for Payments in Agriculture, Fisheries and Rural Development make central public publishers of open data in the agricultural ecosystem in Croatia. According to the number of open files, the most common format is .pdf (not considered to be an open format), followed by .xlsx and .aspx (Graph 1). Almost no dataset was published in an open format (.csv). Additional data sets are opened by the National Bureau of Statistics, as the only publisher of agricultural data that also references its data through the Open Data Portal of the Republic of Croatia.

In addition to the publication of open documents, the Ministry of Agriculture of the Republic of Croatia (see <https://poljoprivreda.gov.hr/>) also creates databases for different target groups (for consumers, or narrower professional communities). These are Food bank, Hagrid, SVIS, Lysacan, VetIS, Owner, Honey of the Croatian apiaries, Eggs of the Croatian farms, KOLK-VETI and By-products. They are available through the eponymous or other (e.g. e-donations, eDPZ) web or installation applications of the Ministry. Access to databases is possible with registration, but there is no information on how users are registered. The databases Honey of the Croatian apiaries, and Eggs of the Croatian farms offer limited search options for users that did not register. Feedback is enabled through the user system by contacting the person in charge of each application for both registered users and the ones not registered.

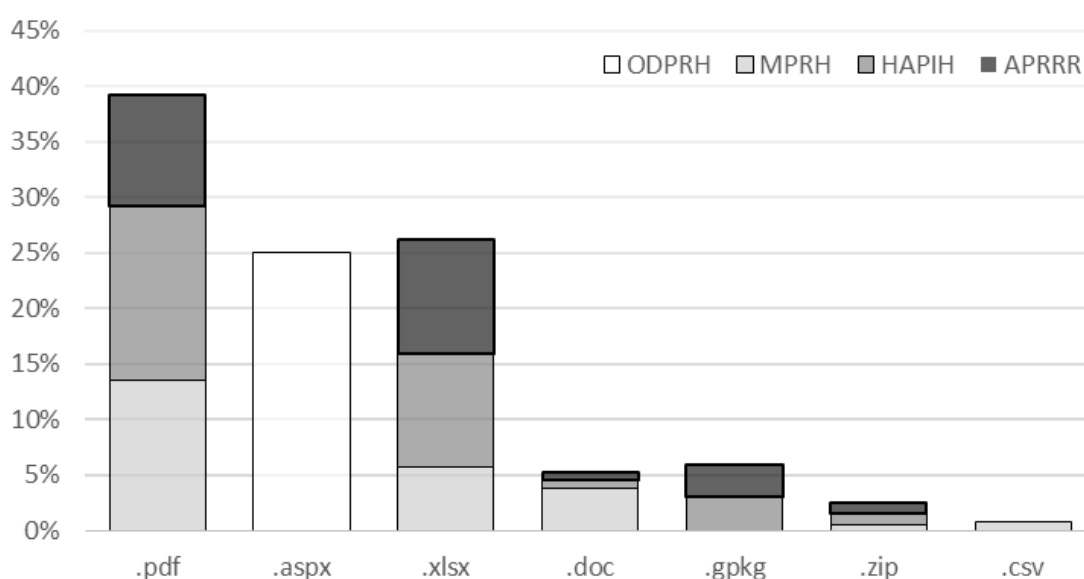
Access to open data sets of the Ministry was analysed based on 202 data sets available through documents in .xlsx, .csv, .doc, .html, .png, .zip, and .pdf formats (0.33 GB) (Graph 1). Predominantly .pdf files, which are not considered to be an open format, that contain aggregated data with certain map visualisations are shared (Graph 1). Animal information is available in the form of data aggregated by cities, without the specification of the animal species. The farm registry is listed, but there is no access to that data. The assessment of breeding values in Croatia is only available for cattle in .html form, and milk control and management of cattle are available through the Owner web application. Breeding associations or similar address books have different levels of availability. Some are open in .html form and others accessible only through applications with registered users. For some address books, visualization is also enabled on the interactive map. Gene bank collections offer aggregated information on the number of samples of reproductive tissues or genomic collections, without the possibility of searching. Individual data sets are available in multiple formats, e.g. .csv, .xlsx and .pdf. For some, the download format information is wrong. Feedback is possible for individual thematic data groups, while information on how to use the data or licenses are generally not available.

The Croatian Agriculture and Food Agency offers the possibility to access information on demand using defined application forms for: access to data; re-use of the data, and supplement or clean the data. Some information from this publisher is freely available on the website <https://www.hapih.hr/>. 36 documents (0.13 GB) were analysed with data related to seed and planting, plant protection, soil, food safety, livestock production, quality control of livestock products, viticulture, fruit growing and vegetable growing that this publisher opens through its website. Predominantly open .pdf files contain mostly aggregated data with



individual map views (Graph 1). In addition to the files freely available on the publisher's website, an additional 14 sets of data were analysed in .xlsx documents (0.17 GB) consisting of raw data related to livestock production provided on demand for scientific and educational purposes. Files that are freely available are not linked, there is no information about licenses, are predominantly of simple structures, while the raw data provided can be purified for different purposes. Visualizations are limited to aggregated data in annual reports.

For the publisher Paying Agency for Agriculture, Fisheries and Rural Development (APRRR) (<https://www.aprrr.hr/>) 75 files out of a total of 5.32 GB were analysed. Most data can be accessed without registration, but some data is available through the Arkod portal, Agronet and Portal ponuda, which require registration. The Arkod portal allows visualization on an interactive map, while Agronet and Portal ponuda allow for data browsing. Terms of use of Arkod spatial information are available on request. The ability to feedback on data is not directly obvious.



Graph 1. Shares of used formats of the number of analyzed files published by central public publishers of open agriculture data in Croatia.

ODPRH – Open dana portal (agriculture); MPRH – Ministry of agriculture; HAPIH – Croatian Agency for Agriculture and Food (Internet documents and documents on demand); APRRR – Paying agency.

The prevailing file types available from this publisher are .pdf and .xlsx, fewer sets are .gpkg files, while exceptional data is present in .doc files, and several archived sets of information are available in compressed .zip files (Table 1). The file format does not provide related data, the license information is generally not present, the data is predominantly aggregated and of simple structure.

Through the Open Data Portal of the Republic of Croatia in the thematic area Agriculture, forestry and fisheries, 30 sets of data were analysed, of which 29 were published by the State Bureau of Statistics and one by APRRR. The National Bureau of Statistics issues aggregated sets of .aspx format data with metadata, and all (sub)selected data can be downloaded in .htm, .json, and various .csv, .xls format options. Each set of data has the specified source, responsible service, contacts of responsible persons and copyright. The APRRR data set lists aggregated farm register statistics and the register published in 2015, but the link is not valid.

Although complementary owners of public data in the agricultural sector from a G2B perspective, such as peripheral public services (cities, counties, municipalities), centres of excellence (Varga et al, in press) and the research and scientific community in this survey are not covered, four data sets sources, i.e. the four data publishers researched, are currently responsible for the fundament of the open agricultural sector ecosystem in Croatia. Step-ups in opening potential are databases, applications and interactive visualizations of the Ministry of Agriculture and APRRR. The additional potential of data in food production in Croatia is carried by non-governmental organisations (LAGs or breeders' associations, etc.) from a B2G perspective. The large representation of .pdf file formats with aggregated data does not currently allow for database and G2G ("government to government") interoperability and efficiency in data usage.

For the final assessment of this ecosystem, in addition to the estimated key elements, an additional three elements should be analysed: user trajectories clarifying the routes of use of open data sets (Walker et al., 2020); the data quality management system; and different types of metadata that can be linked to ecosystem elements (Zuiderwijk et al., 2014). The first step in further evaluation of the system is a stakeholder analyses (Hrustek et al., in press) and the social elements of the open data ecosystem, as well as infrastructure and technological elements and tools for working with open data in this sector. Additional value provides a link to the data space of the agricultural sector, namely the availability of socio-economic, legislative and administrative, environmental and natural resources data with application in the agricultural sector (Šalamon, 2019).

## Conclusions

Although there are steps in the sector to open up the potential of open data in the form of databases, applications and interactive visualisations, central agricultural sector publishers can improve the amount and quality of published open data significantly. The lack of raw data hinders faster access to the consolidated versions of the data, and the opening of predominantly aggregated data prevents the faster development of new knowledge and conclusions from the large amount of information aggregated by central public authorities in the sector. Predominantly used formats are not open and unsuitable for data connectivity, and the lack of licensing information restricts the proper use of open data. Education, data literacy and systematic investment of human capacity and knowledge within the agricultural sector are crucial in enabling the publication of open data and the reuse of such data from central sources, but also for incentivizing peripheral publishers.

## Note

This work was created as a product of the Twinning Open Data Operational (TODO) project funded by the EU Horizon 2020 Research and Innovation Programme (GA: 857592 – TODO).

## References

- Davies T. (2012). Open Data: Infrastructures and ecosystems. ACM Web Science Conference 2012: 1-6.
- EC (2020). A European strategy for data. European Commission, Brussels.
- Gens F., Del Prete C., Lundstrom S., Fearnley B., Nakamura T., Turner V., Carter P., Carvalho L., Fitzgerald S., Gillen A., Matsumoto S., Mohan D., Newmark E., Ng S., Parker R., Schubmehl D., Vesset D., Tom Mainelli T., Rick Villars R., Sutherland H. (2017). Worldwide IT Industry 2018 Predictions. IDC FutureScape, Doc # US43171317.

- Hrustek L., Tomičić Furjan M., Džidić A., Šalamon D., Varga F., van Loenen B. (2021). Key stakeholder groups for digital innovation of agriculture in Croatia. Proceedings of 55th Croatian & 15th International Symposium on Agriculture (in press).
- Musa A., Bevandić D., Herak D., Jadrijević L., Kovačić M., Lukša Z., Vrček N. (2018). Priručnik o ponovnoj uporabi informacija za tijela javne vlasti: otvoreni podaci za sve. Musa A. (ed.), 59. Zagreb, Hrvatska: Povjerenik za informiranje, Hrvatska.
- Panetta C. (2016). Gartner's Top 10 Strategic Technology Trends for 2017. Smarter with Gartner. Gartner.
- Šalamon D. (2019). Overview of open data in Croatia available for use in the sector of agriculture. Book of Abstracts of the International Conference Innovations: Guarantee for Future of Agribusiness in Croatia. Svržnjak K. (ur.). Zagreb: Hrvatsko agroekonomsko društvo, 31-32.
- Šalamon D., Džidić A., Varga F., Čavrak I., Bosnić I. (2021). Data literacy in sector of Croatia-Learning about and with open data. Book of Abstracts of the International Conference Innovations: Innovation in education. Hrvatsko agroekonomsko društvo (in press).
- Varga F., Grdiša M., Nikolić T., Guberović E., Bosnić I., Welle Donker F., Šalamon D. (2021). Dalmatian pyrethrum spatial records quality from Croatian Open Databases. Proceedings of 55th Croatian & 15th International Symposium on Agriculture (in press).
- van Loenen, B., Vancauwenberghe, G., Crompvoets, J., Dalla Corte, L. (2018). Open Data Exposed. In: Van Loenen B., Vancauwenberghe G., Crompvoets J. (eds.). The Hague: TMC Asser Press, 1-10 (Information Technology and Law Series; vol. 30).
- Walker J., Thuermer G., Simperl E., Carr L. (2020). Smart rural: The open data gap. In *The Conference: Data for Policy 2020*, Data for Policy community platform on Zenodo.
- Zuiderwijk A, Janssen M, Davis C (2014). Innovation with open data: essential elements of open data ecosystems, Information Polity 19 (1-2): 17-33.

## Influence factors on decisions in agriculture

Martina Tomičić Furjan<sup>1</sup>, Martina Đuras<sup>1</sup>, Iva Gregurec<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Organization and Informatics, University of Zagreb, Pavlinska 2, Varaždin, Croatia, (mtomicic@foi.unizg.hr)*

### Abstract

Complexity of performing work is getting greater each day, due to the increase of changing conditions in organizations as well as in their environment. In this paper main influence factors on decisions in agriculture have been explored and their general classes have been identified. Literature review shows that influence factors can be classified into one identified groups: Economic characteristics, Climate, Characteristics of soil, Possibility of technology implementation, Knowledge and education opportunities and Policies and social development. Taking influence factors into account, when steering and managing decisions in agriculture, can help better understand and handle their complexity.

**Key words:** agriculture, decisions in agriculture, influence factors

### Introduction

Agriculture and food related industries and services are creditable for providing more than 44 million jobs in the world. Also, the EU is one of the world's leading producers and exporters of agricultural products. This is a consequence of varied climate, fertile soil and good technical skill of farmers, resulting with products of good quality (European Union, EU by topic, 2020).

The decision-making process has in general five phases, namely the intelligence phase, meaning that the decision case is identified and defined, the design phase, where alternative solutions are identified, the choice phase, in which the selection of the action is made, the implementation phase, where the action is performed, and the monitoring phase, which serves for evaluation of the selected action (Tripathi, 2011). So, the decision-making process affects the processes performed as their consequence. Understanding the influence factors that lead to specific decisions and their implementation can help to manage and steer agricultural processes in direction that result with more success.

### Material and methods

Influence factors that affect decisions in agriculture have been explored from different literature sources. First, existing strategic documents from EU have been analysed, since there are great efforts made within the EU region in order to ensure development and sustainability of the agricultural sector. Second group of sources includes strategic documents regulating and steering agriculture in Croatia and the third group of sources explored is scientific research.

### Results and discussion

European Union strategic documents show in general that investing and/or maintaining in sustainable and responsible economic growth is gaining much more importance. A large number of countries and unions, both at the individual and partner level, are adopting their strategic plans in order to make this possible for themselves (Delegation of EU in Japan, 2020).

In December 2019 the European Green Deal proposal was presented by the European Commission as a response to the climate and environmental-related challenges that we are facing every day and with the aim of making Europe climate neutral by 2050. To achieve this, the European Commission has presented a package of measures in eight key policy areas: increasing the EU's climate ambition for 2030 and 2050; supplying clean, affordable and secure energy; mobilizing industry for a clean and circular economy; building and renovating in an energy and resource efficient way; accelerating the shift to sustainable and smart mobility; from "Farm to Fork": designing a fair, healthy and environmentally-friendly food system; preserving and restoring ecosystems and biodiversity, and a zero pollution ambition for a toxic-free environment (European Green Deal Investment plan, 2019). To simplify how EU can make this possible, is by boosting the economy through green technology, creating sustainable industry/transport and by cutting pollution (European Green Deal, 2019).

Or in other words, the European Commission gave those guidelines to protect human life, animals and plants, to help companies become world leaders in clean products and technologies and to help ensure a justified and inclusive transition (What is the European Green Deal, 2019).

In March 2020, the "Farm to Fork" strategy for sustainable food, as a key component of the European Commission's Green Deal was presented. The idea of this strategy is to: increase organic farming, preserve biodiversity, protect the environment, tackle climate change and make sure Europeans get affordable, healthy and sustainable food (European Economic and Social Committee, 2020). This strategy is a part of ambitious response to climate change challenges along the food chain. It reflects the ongoing transformation of food systems worldwide and the goal of making Europe's food system the gold standard for sustainability. "Farm to Fork" strategy is also linked directly to current discussions on the future of the Common Agricultural Policy (European Green deal – Farm to Fork strategy, 2020).

According to European Commission, "Farm to Fork" strategy will have a major part to play in delivering the European Green Deal. A new "Farm to Fork" strategy will prepare a roadmap towards a fair, healthy and environmentally-friendly food system. Its use will have six principal objectives (CAP Reform blog, 2020): to contribute to Europe's climate change agenda; to protect the environment (linking to the Zero Pollution Strategy and the Circular Economy Strategy); to preserve biodiversity (contributing to the updated Biodiversity Strategy for 2030); to encourage sustainable food consumption, to promote affordable and healthy food for all and to improve farmers' position in the value chain.

Insights into Croatian legislation and strategic framework show that in December 2018 the Law on Agriculture was adopted, which includes general provisions, agricultural policy measures (covering agricultural policies in general, rural development measures, direct aid measures and state aid), common market organization for agricultural products, information and promotion measures, rules on strong alcoholic beverages, food (covered by Codex Alimentarius - international food standard, quality requirements for food and feed, natural mineral, natural spring and table waters, prevention of food waste), quality systems, ecological production, education and training for the needs of agriculture and rural development, as well as development and professional affairs, databases, administrative and inspection supervision, official controls and controls of the Paying agency, and misdemeanor provisions and transitional and final provisions. The competent authority for the implementation of all the above legal provisions is the Ministry of Agriculture of the Republic of Croatia, and the implementing body is the Paying Agency for Agriculture, Fisheries and Rural Development (Narodne Novine, 2018).

According to the Paying Agency, there are 19 measures to implement rural development of Croatia. Some of these measures are: transfer of knowledge and information activities of all persons involved in rural development, quality programs for agricultural products and food, development of agricultural holdings and businesses, aid for conservation, sustainable use and development of genetic resources in agriculture, as well as restoration of agricultural potential disrupted by natural disasters and catastrophes, encouraging organic farming and animal welfare (APRRRR, 2020). From these measures it can be seen that already in the period from 2014 to 2020, the legal foundation for the new European Green Deal was well created.

Until April 2020, Croatia has allocated over 2 M euros from the European Agricultural Fund for Rural Development. Most of the funds were allocated to measure 4 - investment in physical assets of farmers (29.7 %), followed by measure 7 - basic services and rural renewal in rural areas (19.6 %), measure 13 - payments to areas with natural constraints or other special restrictions (12.5 %) and measure 6 - development of agricultural holdings and business (10 %). How measures and support from the EU will be implemented and allocated it will be seen in the future when new European Green Deal comes to life at full capacity.

Scientific research on influence factors on decisions in agriculture emphasises that agriculture in Croatia is a very important industry in overall economy. Information technologies contribute with approximately 6 % to the total GDP, and combined with the food sector, they contribute to more than 9 %. This contribution could be still much greater, and despite favorable natural resources, there are some reasons that this is not the case (Franić et al., 2014). Transition to market economy in the 1990s caused difficulties in the agriculture sector, such as loss of tradition markets, unorganized market in general, sale problems, slow administration, high input costs, mechanical and educational production limits, agricultural export-import deficit etc. (Lončarić et al., 2016).

Hadelan et al. (2012) conducted a survey among 34 family farms in Croatia and summarized the main features of business decision making, with special attention on information basis, risk aversion, participants, and goals. The authors concluded that mostly used sources of information are professional journals and agricultural extension services. The interesting fact from the research is that 29.4 % of respondents use the Internet as an information source. Further on, once farmers collect information, most decisions are motivated by some socio-economic goals, meaning that the most important goal for farmers is to achieve the highest income even though it means many sacrifices.

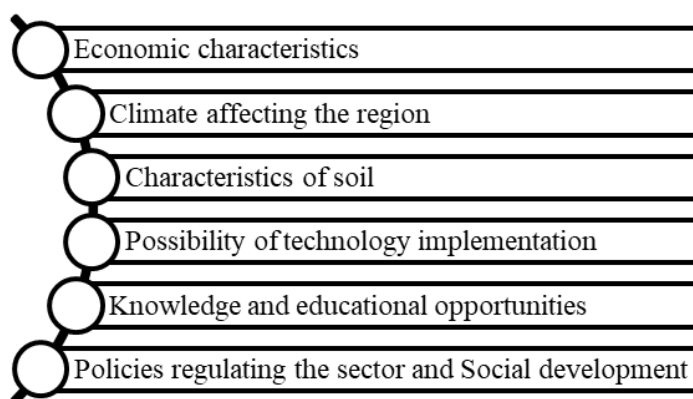
Another important factor that influences the decision-making process is availability of natural resources. Barlett (1980) claims that access to land and wealth and to capital and water resources, affect the decision about starting an agricultural venture, as well as the decision on what to breed.

Education structure in Croatia among farmers and gender aspects are also an important factor which needs to be discussed. In farming, people are in general less educated when compared to other occupations. When speaking of gender context, women are educated mostly for other work, that can be used in agriculture, like accounting, related laws and taxes and selling goods. The same research shows that twice as more men than women have some kind of education for agricultural work. There are also very obvious connections between age, education and family size to general farm related knowledge, whereby, nowadays, farms are still handed forward to male successors (up to 90 %), and only in case that sons are not present or available, daughters are considered to be inheritors (Peršurić and Žutinić, 2008). Further on, it is clear that there is link between farmers' education and agricultural development.

In their research, Jež Rogelj et al. (2019) found out that the level of education of agricultural holders in Croatia is very low. This is also connected to accepting innovative solutions and new technologies for work improvement. Less educated and older farmers have difficulties with accepting new technologies because they are not prone to changes. It seems that bringing and accepting innovation in Croatian agriculture is not going to be easy nor quick, because the age structure of family farm holders is unfavorable. Most family farm holders (38.74 %) are older than 65 which is adverse for both survival and development of agriculture.

Using new, information and digital technologies today is an essential part of any business and also can be of essential importance in improvement of agricultural production. As mentioned earlier, the structure of population in rural areas (which are usually working in the agricultural sector) by level of education lags the educational level of the general population. This is causing slow technological progress, and only smartphones that provide wireless Internet access and have enabled real-time data recording, which is one of the essential factors in decisions (Brezinščak and Mesić, 2018) can be considered to be a widely used technology in most farms in Croatia. All other digital technologies (Schwab, 2017) like Internet of Things, Artificial intelligence, Robotics, Big data use etc. are still in their infancy level of use.

The summarized presentation of classes in which all influence factors from exploratory research on the existing contribution can be positioned is shown in Picture 1.



Picture 1. Classes of influence factors on decisions in agriculture

## Conclusions

According to all facts related to the European Green Deal, and especially to “Farm to Fork” strategy, a conclusion can be made that all macroeconomic environment factors can influence what will EU countries produce, and how will they develop their own agricultural strategies with the help of EU guidelines (and six principal objectives of “Farm to Fork” strategy). Economic and political factors of each country are not the same, also as climate, physical, technological and social ones. Which strategy will be adopted by each country individually, but also as a part of the European Union, depends on the development of each country, its economic and political factors (that EU can influence according to its guidelines), its geographical location and climate they can’t influence on, but also it depends of how technology and knowledge of farmers and its education can affect agricultural strategy in general. Based on the development of a certain EU country and its natural resources, each country should develop guidelines on what to produce to be most effective.

## Acknowledgement

This research has been conducted as part of the wider research in the project Competence Centre for Digital Transformation of the Food Industry in Rural Areas, which is funded by European Union through the European Regional Development Fund (ERDF).

## References

- APPRRR. Available from: <https://www.apprrr.hr/ruralni-razvoj/>
- Barlett F.P. (1980). *Agricultural Decision Making*. Anthropological Contributions to Rural Development. INC., Atlanta, Georgia: Academic Press.
- Brezinščak L., Mesić M. (2018). Review of software applications for agricultural production in Croatia. *Agronomski glasnik*. 80 (2): 129-142.
- CAP Reform blog. *Agriculture in the European Green Deal*. Available from: <http://capreform.eu/agriculture-in-the-european-green-deal/>
- Delegation of the European Union to Japan. Available from: [https://eeas.europa.eu/delegations/japan/73242/%C2%A0european-green-deal\\_en](https://eeas.europa.eu/delegations/japan/73242/%C2%A0european-green-deal_en)
- European Economic and Social Committee. Thematic debate on “The European Green Deal – the farm to fork strategy”. Available from: <https://www.eesc.europa.eu/en/news-media/news/thematic-debate-european-green-deal-farm-fork-strategy#downloads>
- European Green Deal – Farm to Fork Strategy for Sustainable Food. Available from: [https://ec.europa.eu/knowledge4policy/event/european-green-deal-farm-fork-strategy-sustainable-food\\_sl](https://ec.europa.eu/knowledge4policy/event/european-green-deal-farm-fork-strategy-sustainable-food_sl)
- European Green Deal Investment Plan. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1588582651667&uri=CELEX%3A52020DC0021>
- European Green Deal. Actions being taken by the EU. Available from: [https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal/actions-being-taken-eu\\_en](https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal/actions-being-taken-eu_en)
- European Union, EU by topic. Available from: [https://europa.eu/european-union/topics/agriculture\\_en](https://europa.eu/european-union/topics/agriculture_en)
- Franić R., Jurišić Ž., Gelo R. (2014). Proizvodnja hrane i ruralni razvoj – izgledi za Hrvatsku u europskom kontekstu. *Agroecnomia Croatica*. 48 (1): 16-24.
- Hadelan L., Karlić T., Mikuš O., Par V. (2012). Family farms decision making features. *Agronomski glasnik*. 74 (2-3): 91-107.
- Ilak Peršurić A.S., Žutinić Đ. (2008). Education for Family Farms and Gender Aspects in Croatia. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 73 (1): 43-49.
- Jež Rogelj M., Hadelan L., Kovačiček T., Mikuš O. (2019). Education as a prerequisite for innovative agriculture. *Agroecnomia Croatica*. 9 (1): 81-90.
- Lončarić R., Lončarić Z., Tolušić Z. (2016). What Croatian farmers think about situation in agriculture? *European Scientific Journal*. August 2016 Special Edition: 335-347.
- Marchau V.A. (2019). *Decision making under deep uncertainty: From theory to practice*. Springer, Cham.
- Narodne Novine 118/2018. Available from: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2018\\_12\\_118\\_2343.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2018_12_118_2343.html)
- Program ruralnog razvoja 2014. - 2020. Available from: <https://ruralnirazvoj.hr/status-provedbe-programa-ruralnog-razvoja-2014-2020/>
- Schwab K. (2017). *The fourth industrial revolution*. UK: Portfolio penguin.
- Tripathi K.P. (2011). Decision support system is a tool for making better decisions in the organization. *Indian Journal of Computer Science and Engineering*. 2 (1): 112-117.
- What is the European Green Deal? Available from: [https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/fs\\_19\\_6714](https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/fs_19_6714)



## Ponašanje pripadnica generacije Y u potrošnji *gina*

Marina Tomić Maksan<sup>1</sup>, Željka Mesić<sup>1</sup>, Marin Mihaljević Žulj<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska (matomic.agr.hr)*

### Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi ponašanje žena (pripadnica generacije Y) u konzumaciji *gina*, važnost pojedinih obilježja *gina* i motive za konzumaciju *gina*. Anketno ispitivanje provedeno je na uzorku od 167 konzumenata *gina* ženskog spola. Rezultati istraživanja pokazali su da pripadnice generacije Y najčešće konzumiraju *gin* na mjesečnoj razini, u kafićima/restoranima tijekom druženja s prijateljima i obitelji. Žene češće piju *gin* stranog podrijetla, a tek je petina njih probala *gin* domaćeg podrijetla. Većina žena preferira proziran *gin* i konzumira ga u kombinaciji s tonikom. Najvažnija obilježja *gina* ženama su okus i odnos cijene i kvalitete.

Dobiveni rezultati korisni su za proizvođače *gina* u svrhu planiranja proizvodnje, te marketinške stručnjake za kreiranje strategija s ciljem povećanja prodaje i konzumacije *gina* među ženama.

**Ključne riječi:** *gin*, žene, anketno ispitivanje, generacija Y

### Uvod

*Gin* je alkoholno piće koje posljednjih godina bilježi značajan porast popularnosti među potrošačima, ali i proizvođačima. Predviđa se da će prodaja *gina* do kraja 2020. godine dosegnuti 1,3 milijarde £ (Mintel, 2015.), dok će ukupna konzumacija *gina* u razdoblju 2018. - 2023. porasti za 4,4 % (IWSR). *Gin* se definira kao jako alkoholno piće aromatizirano borovicom i dobiveno aromatiziranjem senzorski odgovarajućeg etilnoga alkohola poljoprivrednoga podrijetla s bobicama borovice (*Juniperus communis* L.). Alkoholna jakost *gina* koji se stavlja na tržište kao gotov proizvod je najmanje 37,5 % vol. U proizvodnji *gina* smiju se koristiti samo prirodne i/ili prirodno identične aromatične tvari definirane Pravilnikom o jakim alkoholnim pićima (NN 61/2009). Specifičnost ponude *gina* na domaćem i stranom tržištu je u rastućoj dominaciji malih i srednjih poduzeća, koja se nastoje razlikovati od konkurencije isticanjem autentičnosti biljaka i lokalnog kulturnog kapitala (Pedeliento i sur., 2017.). Iako je trend konzumacije *gina* prisutan među svim generacijama, ranija istraživanja pokazuju da su pripadnici generacije Y najveći konzumenti *gina* (Mintel, 2015.). Generacija Y ili „Milenijalci“ je generacija rođena poslije generacije X te prije generacije Z, odnosno u razdoblju između 1981. godine i 1994. godine, a obilježava ih sklonost kupnji inovativnih i originalnih proizvoda, te veća informiranost o proizvodima prije same kupnje, kao i hedonističke potrošačke navike i sklonost e-kupovini (Moralčić i Pandža Bajs, 2014., Babić, 2018., Kellershohn, 2018.). Prema rezultatima istraživanja Armira i sur. (2016.) u Grčkoj, pripadnici generacije Y, najčešće konzumiraju alkohol jedan do dva puta tjedno, a *gin* je peto alkoholno piće po učestalosti konzumacije (iza piva, *whiskeya*, vodke i vina). Hunn (2017.) navodi da pripadnici generacije Y diktiraju trendove na tržištu *gina*, pri čemu preferiraju *craft ginove* koji su jedinstveni i lokalno proizvedeni. U novije vrijeme *gin* se najčešće pije u kombinaciji s tonikom i začинима, te ga se često deklarira kao „žensko piće“. Iz tog razloga u ovom istraživanju orijentirali smo se na potrošače ženskog spola. S obzirom na nedostatak istraživanja o ponašanju potrošača

pripadnica generacije Y u kupnji i konzumaciji *gina*, cilj ovog istraživanja je utvrditi ponašanje žena u konzumaciji *gina*, važnost pojedinih obilježja *gina* i motive za konzumaciju *gina*.

### Materijal i metode

On-line anketno ispitivanje provedeno je u razdoblju od 15. svibnja do 21. svibnja 2019. godine na uzorku od 167 konzumenata *gina* ženskog spola. Web adresa anketnog upitnika bila je plasirana na Facebook stranici te je putem e-maila poslana prigodnim ispitanicima. Anketno ispitivanje je u prosjeku trajalo 5-7 minuta po ispitaniku, a sudjelovanje u istraživanju bilo je dobrovoljno. Anketni upitnik se sastojao od četiri skupine pitanja: ponašanje potrošača u konzumaciji *gina*, važnost pojedinih obilježja *gina*, motivi za konzumaciju *gina* i socio-demografska obilježja. Važnost pojedinih obilježja *gina* mjerena je na ljestvici od 5 stupnjeva (1 - potpuno navežno obilježje, 5 - vrlo važno obilježje). Kako bi utvrdili motive za konzumaciju *gina* korišteno je 12 izjava preuzetih iz rada autora Cooper (1994.), pri čemu su ispitanice žene iskazale stupanj slaganja sa svakom izjavom. Korištena je ljestvica od 5 stupnjeva (1 - uopće se ne slažem, 5 - potpuno se slažem). Anketni upitnik sadržavao je 3 diskvalifikacijska pitanja - prvo diskvalifikacijsko pitanje odnosilo se na spol jer su u istraživanje bile uključene samo osobe ženskog spola, drugo se odnosilo na godinu rođenja ispitanika jer su ciljnu skupinu činili samo ispitanici rođeni u razdoblju 1981. godine do 1994. godine, tj. pripadnici generacije Y. Zadnje diskvalifikacijsko pitanje odnosilo se na konzumaciju *gina* jer su u istraživanje bili uključeni samo konzumenti *gina*. U svrhu analize prikupljenih podataka korišten je statistički program SPSS, verzija 21. Provedena je jednovarijatna (frekvencije i distribucija podataka) analiza podataka.

### Rezultati i rasprava

#### Opis uzorka

U istraživanju je sudjelovalo 167 ispitanika ženskog spola. Čak 54,5 % ispitanih žena ima završenu visoku/višu školu, slijede one sa završenim magisterijem/doktoratom (28,7 %), dok je 16,8 % žena sa srednjom stručnom spremom. Preko polovice žena ima status zaposlene osobe (55,7 %), 40,1 % su studentice, a 4,2 % nezaposlene. Mjesečna primanja žena najčešće se kreću do 5.000 kuna (58,7 %), od 5.001 - 8.000 kuna zarađuje njih 29,4 %, dok ostalih 12 % mjesečno prima više od 8.000 kuna. Najveći udio ispitanih žena stanuje u Gradu Zagrebu (43,7 %), Zadarskoj županiji (25,7 %) i Splitsko-dalmatinskoj županiji (7,2 %).

#### Ponašanje žena u konzumaciji *gina*

Najviše ispitanih žena (41,9 %) konzumira *gin* jednom ili nekoliko puta mjesečno, slijede one koje konzumiraju *gin* nekoliko puta godišnje (40,7 %), dok je 13,2 % onih koji konzumiraju *gin* na dnevnoj ili tjednoj razini. Rjeđe od nekoliko puta godišnje *gin* konzumira 4,2 % ispitanih žena. Čak 83,8 % žena konzumira *gin* prilikom druženja s prijateljima/obitelji. Na proslavama (rođendani i sl.) *gin* konzumira 59,3 % ispitanih žena, a na koncertima/festivalima njih 22,2 %. Nešto više od 15 % žena konzumira *gin* bez posebne prigode, a samo 0,6 % njih konzumira *gin* u slobodno vrijeme. Na pitanje o najčešćoj prigodi konzumiranja *gina* postojala je mogućnost više odgovora.

Što se tiče mjesta konzumiranja *gina*, žene najčešće konzumiraju *gin* u kafićima/restoranima (70,7 %), zatim kod prijatelja/članova obitelji (20,4 %) i kod kuće (7,2 %). Tek 0,6 % ispitanih žena konzumira *gin* u klubu, a 1,2 % na svim navedenim mjestima. Nadalje, 76 % žena preferira *gin* koji je proziran, odnosno bez boje. Manji udio ispitanih žena odabire

ružičastu (16,2 %) i plavu (4,2 %) boju *gina*. Preostali udio žena navodi kako im boja *gina* nije važna.

S obzirom na tehnologiju proizvodnje, žene uglavnom nemaju znanja o tome koji *gin* konzumiraju (59,9 %), slijede one koji odabiru London dry *gin* (29,3 %), destilirani *gin* (6,6 %), dok samo 4,2 % preferira draft *gin*. Ispitane pripadnice generacije Y najčešće piju *gin* s tonikom (77,8 %) ili s bitter lemonom (16,8 %). Nadalje, kombiniraju *gin* s juiceom, spriteom, tangerinom i s vodom s okusom ili pak konzumiraju „čisti“ *gin*.

Iako posljednjih godina raste broj domaćih proizvođača *gina*, žene u većem udjelu konzumiraju *gin* stranog podrijetla (64,1 %) ili navode kako im je svejedno radi li se o *ginu* domaćeg ili stranog podrijetla (32,3 %). Samo 3,6 % ispitanih žena najčešće odabire *gin* domaćeg podrijetla. Po pitanju marke *gina*, žene pripadnice generacije Y najčešće konzumiraju *gin* marki Hendrik`s (44,9 %), Bombay (18 %) i Beefeater (15,6 %). Ipak, 4,2 % ispitanih žena ne zna koji *gin* najčešće konzumiraju s obzirom na marku. Od ostalih tržišnih marki *gina*, žene navode Mare, Gunpowder, Tanqueray i druge.

Gotovo polovica ispitanih žena ne zna jesu li probali *gin* hrvatskog podrijetla (46,7 %), njih 34,7 % nije probalo *gin* hrvatskog podrijetla, a njih 18,6 % konzumiralo je *gin* hrvatskih proizvođača. Žene koje su konzumirale *gin* hrvatskih proizvođača najbolje su upoznate s *ginom* Luftbremzer (26,1 %), zatim Old Pilot`s *gin* (21,7 %), Rhapsody dry *gin*, te Rebel i Empire *gin* od Maraske (po 17,4 %). Old Pilot's *gin* trenutno je jedan od najpoznatijih craft *ginova* u Hrvatskoj, a važno je spomenuti i da je osvojio zlatnu medalju na Svjetskom natjecanju u vinima i destilatima (IWSC) u 2019. godini.

Najveći udio žena spremne su izdvojiti između 101 do 150 kuna za bocu (0,71) *gina* (45,5 %), slijede one koji bi platili 151 - 200 kuna bocu *gina* (29,3 %). Petina ispitanih žena spremna je izdvojiti do 100 kuna za bocu *gina*. Ostali su spremni izdvojiti više od 200 kuna za bocu (0,71) *gina* (3,6 %).

#### Važnost pojedinih obilježja *gina*

Prema rezultatima prikazanim u Tablici 1 vidljivo je kako žene najveću važnost pridaju okusu *gina* (srednja vrijednost 4,42), nešto je manje važan odnos cijene i kvalitete (srednja vrijednost 4,16), a slijede miris (srednja vrijednost 3,74) i cijena (srednja vrijednost 3,58). Boja (srednja vrijednost 2,77) i podrijetlo *gina* (srednja vrijednost 2,37) nisu važni ženama. Dobiveni rezultati su u skladu s rezultatima istraživanja od autorice Lang (2015.), koja je utvrdila da su kvaliteta i okus presudni kod odabira *gina*.

Tablica 1. Važnost pojedinih obilježja *gina*

	Srednja vrijednost	Standardna devijacija
Okus	4,42	0,89
Odnos cijene i kvalitete	4,16	0,98
Miris	3,74	1,15
Cijena	3,58	1,03
Izgled pakiranja	2,76	1,27
Marka (proizvođač)	2,71	1,22
Boja	2,77	1,26
Podrijetlo	2,37	1,13

## Motivi za konzumaciju gina

Gotovo trećina ispitanih žena uvijek pije *gin* na proslavama posebnih prigoda s prijateljima. Gotovo petina njih slaže se da je konzumacija *gina* uvijek zabavna, a jednak udio žena pije povremeno *gin* jer druženje s prijateljima čini zabavnijim. Nadalje, 21,6 % žena povremeno pije *gin* jer im pomaže da uživaju na zabavama, dok 16,8 % povremeno pije *gin* kako bi se oraspoložili kada su loše volje. Čak 86,8 % ispitanih žena nikada ne pije *gin* kako bi se svidjeli drugima. Preko 80 % žena nikada ne pije *gin* kako bi se uklopili u društvo, a 77,8 % nikada ne pije *gin* da zaboravi na probleme – Tablica 2.

Tablica 2. Motivi za konzumaciju *gina*

	Nikada		Rijetko		Povremeno		Uglavnom		Uvijek	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Pijem <i>gin</i> kako bih se uklopila u društvo.	135	80,8	16	9,6	13	7,8	2	1,2	1	0,6
Pijem <i>gin</i> jer druženje s prijateljima čini zabavnijim.	60	35,9	41	24,6	33	19,8	17	10,2	16	9,6
Pijem <i>gin</i> na proslavama posebnih prigoda s prijateljima.	17	10,2	17	10,2	43	25,7	37	22,2	53	31,7
Pijem <i>gin</i> da zaboravim na probleme.	130	77,8	19	11,4	10	6,0	1	0,6	7	4,2
Konzumacija <i>gina</i> mi pomaže kada sam nervozna.	116	69,5	24	14,4	19	11,4	1	0,6	7	4,2
Pijem <i>gin</i> jer je u trendu.	110	65,9	26	15,6	20	12,0	9	5,4	2	1,2
Pijem <i>gin</i> jer mi pomaže da uživam na zabavama.	60	35,9	38	22,8	36	21,6	20	12,0	13	7,8
Pijem <i>gin</i> kako bih se oraspoložila kada sam loše volje.	93	55,7	24	14,4	28	16,8	13	7,8	9	5,4
Pijem <i>gin</i> jer se tada osjećam samouvjerenije.	103	61,7	30	18,0	20	12,0	10	6,0	4	2,4
Konzumacija <i>gina</i> je zabavna.	33	19,8	26	15,6	44	26,3	31	18,6	33	19,8
Prijatelji me potiču da pijem <i>gin</i> .	87	52,1	31	18,6	26	15,6	13	7,8	10	6,0
Pijem <i>gin</i> kako bih se svidjela drugima.	149	89,2	10	6,0	3	1,8	3	1,8	2	1,2

## Zaključak

Posljednjih godina bilježi se trend porasta konzumacije *gina*. Rezultati istraživanja pokazali su da ženske pripadnice generacije Y najčešće konzumiraju *gin* jednom ili nekoliko puta mjesečno ili pak nekoliko puta godišnje. Većina ispitanih žena konzumira *gin* prilikom druženja s prijateljima/obitelji, na proslavama (rođendani i sl.) te na koncertima/festivalima. Žene najčešće konzumiraju *gin* u kafićima/restoranima i kod prijatelja/članova obitelji. Većina žena preferira proziran *gin*, a slijede ih one koji odabiru ružičastu i plavu boju gina. Pripadnice generacije Y *gin* najčešće konzumiraju u kombinaciji s tonikom. Nadalje, najčešće konzumiraju *gin* stranog podrijetla pri čemu biraju tržne marke Hendrik`s, Bombay i Beefeater. S obzirom na tehnologiju proizvodnje, žene uglavnom nemaju znanja o tome koji *gin* konzumiraju. Gotovo polovica ispitanih žena ne zna jesu li probali *gin* hrvatskog podrijetla, a one koje su probale *ginove* domaćih proizvođača najbolje su upoznate s *ginom*

Luftbremzer i Old Pilot`s. Žene su u najvećem udjelu spremne izdvojiti između 101 do 150 kuna za bocu (0,7 l) *gina*. Najvažnija obilježja *gina* za žene su okus, odnos cijene i kvalitete, te miris i cijena, dok su glavni motivi za konzumaciju *gina* obilježavanje proslava posebnih prigoda s prijateljima i činjenica da konzumacija *gina* čini zabavnijim druženje s prijateljima.

## Literatura

- Armira A., Armira E., Drosos D., Skordoulis M., Chalikias M. (2016). Determinants of consumers' behaviour toward alcohol drinks: the case of Greek millennials. *International Journal of Electronic Customer Relationship Management*. 10 (1): 14-27.
- Babić A. (2018). Specifičnosti kupovnog ponašanja segmenata Milenijalci. Završni rad, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli. Raspoloživo: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:137:362074>
- Hunn K. (2017). Setting Sights on Building a Strong Brand: Key Insights from the South African Gin Trend A Case study on Blind Tiger Gin. Raspoloživo: <http://iiespace.iie.ac.za/handle/11622/195>
- IWSR Provenance and profits: The future of the gin industry. Raspoloživo: <https://www.theiwsr.com/news-and-comment-provenance-and-profits-the-future-of-the-gin-industry/>
- Kellershohn J. (2018). Alcoholic Beverages: Technology and Next-Generation Marketing. In: Panda S. K., Halady P. K. S. (2018). *Innovations in Technologies for Fermented Food and Beverage Industries*. Food Microbiology and Food Safety. Springer, Cham, 89-104.
- Mintel (2015). A new dawn for the Gin-naissance: Brits aged under 35 are the most likely to drink gin Raspoloživo: <https://www.mintel.com/press-centre/food-and-drink/a-new-dawn-for-the-gin-naissance-brits-aged-under-35-are-the-most-likely-to-drink-gin>
- Moralić S., Pandža Bajs I. (2014). Analiza obilježja hrvatskih potrošača generacije Y u potrošnji vina. *Zbornik Ekonomskog fakulteta u Zagrebu*. 12 (2): 1-16.
- Pedeliento G., Andreini D., Dalli D. (2017). The local(s) as the new global? Local brands for the new premium markets for spirits: The case of gin mare. Sage Publishing
- Pravilnik o jakim alkoholnim pićima (NN 61/2009.) Raspoloživo: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009\\_05\\_61\\_1405.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_05_61_1405.html)

## Generation Y females behaviour in gin consumption

### Abstract

The aim of the study was to determine the females behaviour (members of Generation Y) in gin consumption, the importance of certain characteristics of gin and motives for gin consumption. The survey was conducted on a sample of 167 female gin consumers. The results of the research showed that Generation Y females consume gin most often on a monthly basis, in cafes/restaurants while hanging out with friends and family. Females drink more gin of foreign origin, and only one-fifth of females tried gin of domestic origin. Females are more familiar with industrial gins from the Republic of Croatia. Most females prefer gin without color and consume it in combination with a tonic. The most important characteristics of gin to females are taste and value for money. The obtained results are useful for gin producers for the purpose of production planning, and marketing experts for creating strategies with the aim of increasing sales and consumption of gin among females.

**Key words:** gin, females, survey, generation Y

## Socio-ecological challenges of rural development in Croatia

Tijana Trako Poljak<sup>1</sup>, Vladimir Ivanović<sup>1</sup>, Bruno Šimac<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Humanities and Social Sciences, Department of Sociology, University of Zagreb, Ivana Lučića 3, Zagreb, Croatia (ttrako@ffzg.hr)*

### Abstract

Globalization processes, aggravated by global ecological crisis, exert pressures on all parts of the world and Croatian rural areas are no exception. Post-socialist legacy, wartime destruction, transition to democratic liberal system, and accession to the EU are just some of the challenges to rural development in Croatia. However, while rural areas are regaining principal position in developmental policies, there is a lack of more comprehensive scientific research in Croatia that would inform national development strategies. We argue for the need for socio-ecological research, which would include not only economic but environmental and social aspects of rural development as well.

**Key words:** social ecology, rural sociology, rural development, Croatia

### Introduction

The effects of modernization, industrialization and urbanization, as well as global ecological crisis, cannot be avoided in serious analyzes of the contemporary state of rural areas around the world. Most commonly, authors warn against negative consequences of globalization, however some even announce the end of the rural society (Friedland, 1982; Mendras, 1971). Although globalization does not discriminate between rural and urban areas, its negative consequences are particularly felt in rural areas, due to factors such as reduced population density, greater spatial isolation, lacking infrastructure and facilities, greater economic challenges, and vulnerability because of a greater dependence on immediate natural resources.

Negative consequences of globalization on rural development are reflected in economic, political, cultural, social and ecological sense. *Economically*, authors discuss the openness of the market, where prices are regulated by large corporations with which rural producers cannot compete (Sumner, 2005, Barbier, 2000); industrialization of agriculture and the collapse of small family economies (Leichenko and O'Brien, 2002); changes in agricultural production, deagrarianization; sale, abandonment and degradation of land; flexible and unstable labor market, which has particularly impacted women, elderly and agricultural workers (Leach and Winson, 1995); poor local governments (Sverrisson and Dijk, 2000); centralization and privatization of public goods and services (Mungall, 2005); as well as the commodification of cultural and natural resources (Marsden, 1999). In the *political* sense, the state often places more emphasis on urban population and their quality of life when developing policies and subsidizing socio-economic development. In the *social* sense, poverty is rising (Šućur, 2000), as is the debt of rural population who fail to adapt to the modern labor market; rural areas have more difficult access to public goods and services, such as quality education and health (Brown and Schaft, 2003), as well as modern communication technologies (Townsend et al., 2013); cultural diversity is under threat of a global mass culture (Cifrić, 2003); while in demographic terms we are witnessing depopulation, change in the composition of the population (ESPON, 2017) and destabilization of social relations; as well as a deepening gap between the village and the city, where the village is increasingly marginalized (EC, 2008). *Ecologically*, traditional

rural landscapes are increasingly giving way to industrialized and urbanized landscapes, resulting in excessive exploitation of natural resources (deforestation, excessive land use for agriculture, excessive grazing, drying of aquatic sources, excess fishing, etc.; The Worldwatch Institute 2017), as well as loss of biodiversity and pollution of water, air and soil; while consumerism is changing the rural population's attitudes towards the natural environment (Cifrić, 2003).

However, although globalization is most often seen as a disintegrative process, a number of authors show that it should be seen as an ambivalent process with integrative potential from which even rural areas can potentially benefit. As Woods (2007) points out, rather than viewing globalization as a dichotomous process of domination or subordination, we should try to understand it as a process of negotiation and transformation, in which rural areas and their population should play a significant active role.

### Socio-Ecological Challenges to Rural Development in Croatia

There is an enviable tradition of sociological and related studies of rural areas in Croatia. It began in the 19<sup>th</sup> and early 20<sup>th</sup> century (Bogišić, 1866, Radić, 1897) as rural areas were facing their first modernization, and continued between the two world wars (Bićanić, 1936, Erlich, 1945, Horvat, 1931, Predavec, 1934, Tomašić, 1937). It also continued after the Second World War when Croatian villages experienced their second, socialist modernization (Cifrić, 2003), which brought with it the agrarian reform, disintegration of the agrarian society and traditional rural structure, strong influence of industrialization, collapse of cooperatives and collectivization of agriculture (1950s), as well as specialization, agricultural economy, deagrarianization, demographic changes, the integration of the rural population in the global social system, and modern technologies and innovations (60s) (Petak et al., 2002). Since the 1960s, systematic research of the rural areas has been conducted by the so-called "Zagreb Rural Sociological School" (Puljiz, 1977, Dilić, 1971, Livada and Perović, 1974, Cvjetičanin, 1980, First-Dilić, 1983). However, since the late 1970s there has been a decline in public interest in rural areas followed by the decline in research interest as well (Petak et al., 2002).

The third modernization brought enormous challenges for Croatian rural areas, which have intensified over the past 30 years. The post-socialist period of transition to a democratic liberal capitalist system required long-lasting adaptation of the entire Croatian society, including the rural areas, in social, political, economic, cultural and ecological sense. The war and post-war period left severe challenges in terms of demography, the need for a renewal of material infrastructure and the environment, as well as social disintegration (Petak et al., 2002). At the same time, Croatia is impacted by the wider global trends as well, the processes of globalization, urbanization, industrialization, and the penetration of new communication technologies and technological innovations. Finally, the accession to the European Union since 2013 required the adoption of a new set of rules and values related, on the one hand, to development strategies and, on the other hand, to the reconstruction of own national identity, of which local rural identities are an important part. The global social-ecological crisis affects Croatia and its rural areas as well, so an additional requirement for every rural development strategy is to be more inclusive of the social, economic, and ecological dimension (for an example of this multidimensional approach to agriculture, see Mikuš et al., 2020, Jež Rogelj et al., 2020, Hadelan et al., 2019). The existing Croatian Rural Development Programme (Ministry of Agriculture, 2014-2020) thus emphasizes the importance of small farms for "the rural population, conservation and environmental protection, population and cultural heritage of rural communities and the production of local

products". Also, the new Common Agricultural Policy (EC, 2021-2027) recognizes the need for including increasing socio-economic and ecological resilience of the rural areas.

The negative consequences of these challenges have been reflected in Croatian rural areas in social, economic and ecological sense. In the *social* sense, demographic changes include emigration, especially of the younger population (rural exodus), population aging (Nejašmić and Toskić, 2013), low birthrate, but also a potential rise in in- and out-migration. Over the years, there has been a significant decrease in the share of rural population in the total population: in 1961 there was 68.4 % of rural compared to 31.6 % of urban population, in 1971 58 %, in 1981 48.5 %, in 1991 43.8 %, and 42.7 % in 2001 (CBS, 2011). According to the OECD criteria, Croatia had 47.6 % of rural population in 2001, while in 2011 the number fell to 39.1 %. Consequently, in the declining and aging population there is a decrease in economic activity with social and cultural life disappearing as well (Nejašmić and Toskić, 2013). At the same time, globalization and modernization impacts, especially the pressure of the city and its way of life, continue to endanger local cultural identities, creating a complex mix of traditional, modern and postmodern values in both urban and rural areas (Cifrić, 2008, Cifrić et al., 2013) and causing an irreversible loss of traditional rural knowledge, skills and customs. The perspectives of survival in the form of heritage preservation and rural tourism also have their challenges. At the same time, the gap between urban centers and rural peripheries, the concentration in larger urban centers and the dying out of more remote villages is intensifying. The lack of infrastructure and traffic connections is recognized as one of the most important problems by the inhabitants of Croatian rural areas (Štambuk, 2002). In the *economic* sense, most prominent are the changes in the agricultural structure. The number of employed in agriculture declined dramatically by 2011 to 3.62 % (CBS, 2011) and to 1,9 % in 2018 (CBS, 2018). The share of agriculture in total GDP is also steadily declining, although in 2016 it was 3.99 %, which is still high compared to the EU (Nejašmić and Toskić, 2013). However, the problem in Croatia is the gap between small and hard-to-survive farms and large agricultural producers (Nejašmić and Toskić, 2013). There is also the partialization and fragmentation of agricultural land, small production areas of low productivity, extensibility and low technological level of production, and insufficient use of agro-environmental measures, as well as unemployment, deagrarization and land abandonment in general (for more detailed analysis of the issues facing Croatian agriculture, see also: Franić et al., 2014, Jurišić, 2014, Stipetić, 2005). *Ecologically*, the situation is becoming more serious. The negative consequences of the war on the natural environment and infrastructure have only continued the degradation of the natural environment that began in socialism with pro-growth industrialization politics. The above-mentioned unfavorable demographic and economic trends lead to the neglect and degradation of land and soil. Extensive and monoculture agriculture have an adverse effect on nature and the environment, so it is important to continue to encourage nature conservation and ecological production. Industrialization and urbanization also leave negative consequences for the environment through soil, water and air pollution. Global climate change brings with it the dangers of climatic disasters of higher intensity (Počuča, 2004).

## Conclusions

Rural areas are becoming increasingly important within the framework of the EU and UN development strategies and policies. They continue to cover almost half of Europe (44 %; EC, 2018) and the vast majority of Croatian territory (80-90 %, depending on the sources; Ministry of Agriculture, Rural Development Directorate, 2015; Eurostat, 2017), with key cultural and natural resources. Agriculture is also becoming increasingly important with the rise of the world's population, the rising need for a better nutrition, but also as an important factor in national food security, as we have seen with COVID-19 pandemic. Therefore, as



opposed to some predictions of devastation and end of rural societies, the 2000 Declaration of Constance speaks for the first time of the “new village”, the “village of the future”, which is perceived as an active participant in defining and implementing the strategies of its own development and a valuable source of precisely those sustainability principles of living in harmony with natural resources that are so important for modern humankind (Magel, 2002).

However, we are lacking more comprehensive knowledge that would give a clearer and more correct picture of the current state of development of Croatian rural areas, challenges they face, consequences they feel, and the ways in which rural areas and their population respond to these challenges and changes, in order to better assess the success of Croatian rural development at the beginning of the 21<sup>st</sup> century. It is, therefore, crucial to continue the tradition of systematic research projects of Croatian rural areas and thus ensure the continuation of comparable data, as well as to include alongside the economic aspects also the social and environmental domains in such research and, consequently, national rural development strategies.

### Acknowledgement

The results presented in the paper are an output from the Installation research project “Social-ecological challenges of rural development: objective and subjective indicators of resilience of Croatian rural social-ecological systems” (UIP-2019-04-5257, 2020-2024), led by Dr. Tijana Trako Poljak, and supported by the Croatian Science Foundation.

### References

- Barbier E.B. (2000). Links Between Economic Liberalization and Rural Resource Degradation in the Developing Regions. *Agric. Econ.* 23: 299-310.
- Bičanić R. (1936). Kako živi narod: život u pasivnim krajevima. Zagreb.
- Bogišić B. (1866). Naputak za opisivanje pravnijeh običaja, koji u narodu živu. *Književnik.* 3: 600-613.
- Brown D., Schaft K.A. (2003). Social Exclusion in Rural Areas of Eastern and Central Europe. *Eastern European Countryside.* 9: 27-44.
- CBS - Croatian Bureau of Statistics (2011). Census. Available from: <https://www.dzs.hr/Eng/censuses/census2011/censuslogo.htm>
- CBS - Croatian Bureau of Statistics. (2018). Available from: [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2018/09-02-03\\_01\\_2018.htm](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2018/09-02-03_01_2018.htm)
- Cifrić I. (Ed.) (2008). *Relacijski identiteti*. Zagreb: Biblioteka “Razvoj i okoliš”.
- Cifrić I. (2003). *Ruralni razvoj i modernizacija. Prilozi istraživanju ruralnog identiteta*. Zagreb: Biblioteka “Znanost i društvo”.
- Cvjetičanin V. (1980). *Mješovita domaćinstva i seljaci-radnici u Jugoslaviji*. Zagreb: Institut za društvena istraživanja Sveučilišta.
- Dilić E. (1971). *Društveni položaj i orijentacija seoske omladine*. Beograd: Institut za ekonomiku poljoprivrede i sociologiju sela.
- EC – European Commission. (2008). *Poverty and Exclusion in Rural Areas*. Available from: <https://ec.europa.eu/social/BlobServlet?docId=2087&langId=en>
- EC – European Commission. (2018). *Rural Areas and the Primary Sector in the EU*. Available from: <https://ec.europa.eu/.../sites/.../eu-rural-areas-primary-sector.pdf>
- EC – European Commission. (2021-2027). *Common Agricultural Policy*. Available from: [https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/key-policies/common-agricultural-policy/future-cap\\_en](https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/key-policies/common-agricultural-policy/future-cap_en)
- Erllich V.S. (1945). *Phases in the Evolution of Family Life in Yugoslavia*. Ledbury.
- ESPON (2017). *Shrinking Rural Regions in Europe*. Available from: <https://www.espon.eu/rural-shrinking>
- Eurostat (2017). *Statistics on Rural Areas in the EU*. Available from: [https://ec.europa.eu/eurostat/statisticsexplained/index.php/Statistics\\_on\\_rural\\_areas\\_in\\_the\\_EU](https://ec.europa.eu/eurostat/statisticsexplained/index.php/Statistics_on_rural_areas_in_the_EU)

- First-Dilić R. (1983). Dugoročne promjene u ekonomsko-socijalnoj strukturi stanovništva i zaposlenosti. Zagreb: Institut za društvena istraživanja Sveučilišta.
- Franić R, Jurišić Ž, Gelo R. (2014). Food Production and Rural Development - Croatian Perspective Within the European Context. *Agroeconomia Croatica*. 4 (1): 16-24.
- Friedland, W.H. (1982). The End of Rural Society and the Future of Rural Sociology. *Rural Sociology*. 47: 589-608.
- Hadelan L., Šakić Bobić B., Mikuš O., Zrakić Sušac M. (2019). Povezanost diversifikacije poljoprivrednih gospodarstava i socioekonomskih pokazatelja. *Ekonomska misao i praksa: časopis Sveučilišta u Dubrovniku*. 2: 69-85.
- Horvat V. (1931). *Forms of the Family Among the Croats and the Southern Slavs: The Zadruga Family*. The University of Minneapolis Press.
- Jež Rogelj M., Mikuš O., Hadelan L. (2020). Selection of Economic Indicators for Measuring Sustainable Rural Development. In *Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development*. 20 (3): 285-295.
- Jurišić Ž. (2014). Hrvatska poljoprivreda u zajedničkoj poljoprivrednoj politici Europske unije: sadašnjost i sutrašnjica. *Civitas Crisiensis*. 1 (1): 207-221.
- Leach B., Winson A. (1995). Bringing "Globalization" Down to Earth: Restructuring and Labour in Rural Communities. *Canadian Review of Sociology*. 32: 341-364.
- Leichenko R.M., O'Brien K.L. (2002). The Dynamics of Rural Vulnerability to Global Change: The Case of Southern Africa. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. 7: 1-18.
- Magel H. (2002). Dvadeset godina Bavarskog programa obnove sela: spoznaje i perspektive. *Sociologija i proctor*. 40: 88-104.
- Marsden T. (1999). *Rural Futures: The Consumption Countryside and its Regulation*. *Sociologia Ruralis*. 39: 501-526.
- Mendras H. (1971). *The Vanishing Peasant: Innovation and Change in French Agriculture*. Cambridge, MA & London: The MIT Press.
- Mikuš O., Šakić Bobić B., Vrtar D., Mesi, Ž., Hadelan L., Jež Rogelj M. (2020). Agroekološke mjere Zajedničke poljoprivredne politike EU: postižu li ekološke ili socioekonomske učinke? In *Proceedings & abstracts 13th international scientific/professional conference, Jug D., Ravlić M. (Eds.)*, pp. 324-328. Osijek: Glas Slavonije d.d.
- Ministry of Agriculture of the Republic of Croatia (2015). Program of Rural Development of the Republic of Croatia, 2014-2020. Available from: [https://ruralnirazvoj.hr/files/documents/Programme\\_2014HR06RDNP001\\_4\\_2\\_en.pdf](https://ruralnirazvoj.hr/files/documents/Programme_2014HR06RDNP001_4_2_en.pdf)
- Mungall I.J. (2005). Trend Towards Centralisation of Hospital Services, and its Effect on Access to Care for Rural and Remote Communities in the UK. *Rural Remote Health*. 5: 390.
- Nejašmić I., Toskić A. (2013). Starenje stanovništva u Hrvatskoj – sadašnje stanje i perspektive. *Hrvatski geografski glasnik* 75: 89-110.
- Petak A., Puljiz V., Štambuk M. (2002). Časopis Sociologija sela i ruralna sociologija. *Sociologija sela*. 40: 227-251.
- Počuča Ž. (2004). Prilagodba klimatskim promjenama. Aktivnosti na nacionalnoj i globalnoj razini. Conference paper. Osijek: Ministarstvo zaštite okoliša i prirode. Available from: <http://lifeprogramhrvatska.hr/wp-content/uploads/2017/03/Politike-prilagodbe%C5%BDana-Po%C4%8Du%C4%8Da.pdf>
- Predavec J. (1934). *Selo i seljaci*. Zagreb.
- Puljiz V. (1977). *Eksodus poljoprivrednika*. Zagreb: Centar za sociologiju sela, grada i prostora Instituta za društvena istraživanja Sveučilišta u Zagrebu.
- Radić A. (1897). Zbornik za narodni život i običaje: Osnova za sabiranje i proučavanje građe o narodnom životu. Zbornik za narodni život i običaje Južnih Slavena. 2: 1-88.
- Stipetić V. (2005). Razvitak poljoprivredne proizvodnje u Hrvatskoj: tendencije, stanje i osnovni problemi. Zbornik radova Ekonomskog fakulteta u Rijeci. 3 (1): 25-50.
- Sumner J. (2005). *Sustainability and the Civil Commons*. University of Toronto Press.
- Sverrisson A., Dijk M.P.V. (2000). *Local Economies in Turmoil: The Effects of Deregulation and Globalization*. Springer.
- Štambuk M. (2002). *Prostor iza*. Zagreb: Institut društvenih znanosti "Ivo Pilar".

- Šućur Z. (2000). Siromaštvo i nejednakost u Hrvatskoj: osnovni pokazatelji. *Revija za socijalnu politiku*. 7: 221-227.
- The Worldwatch Institute (2017). *EarthEd (State of the World): Rethinking Education on a Changing Planet*. Washington, DC: Island Press.
- Tomašić D. (1937). *Društveni razvitak Hrvata: rasprave i eseji*. Zagreb.
- Townsend L., Sathaseelan A., Fairhurst G., Wallace C. (2013). Enhanced Broadband Access as a Solution to the Social and Economic Problems of the Rural Digital Divide. *Local Economy*. 28: 580-595.
- Woods M. (2007). Engaging the Global Countryside: Globalization, Hybridity and the Reconstitution of Rural Place. *Progress in Human Geography*. 31: 485-507.
- Woods M., McDonagh J. (2011). Rural Europe and the World: Globalization and Rural Development. *European Countryside*. 3: 153-163.

## Preservation of autochthonous species and traditional knowledge by using intellectual property rights. A case study from the German state of Baden-Württemberg

Alexander Wirsig<sup>1</sup>, Wolfgang Heisrath<sup>2</sup>, Roman Lenz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*MBW Marketing und Absatzförderungsgesellschaft für Agrar - und Forstprodukte aus Baden Württemberg mbH, Leuschnerstr 45, Stuttgart, Germany (wirsig@mbw-net.de)*

<sup>2</sup>*KLEINER Rechtsanwälte, Alexanderstraße 3, Stuttgart, Germany*

<sup>3</sup>*Nürtingen-Geislingen University of Applied Sciences, Neckarsteige 6-10, Nürtingen, Germany*

### Abstract

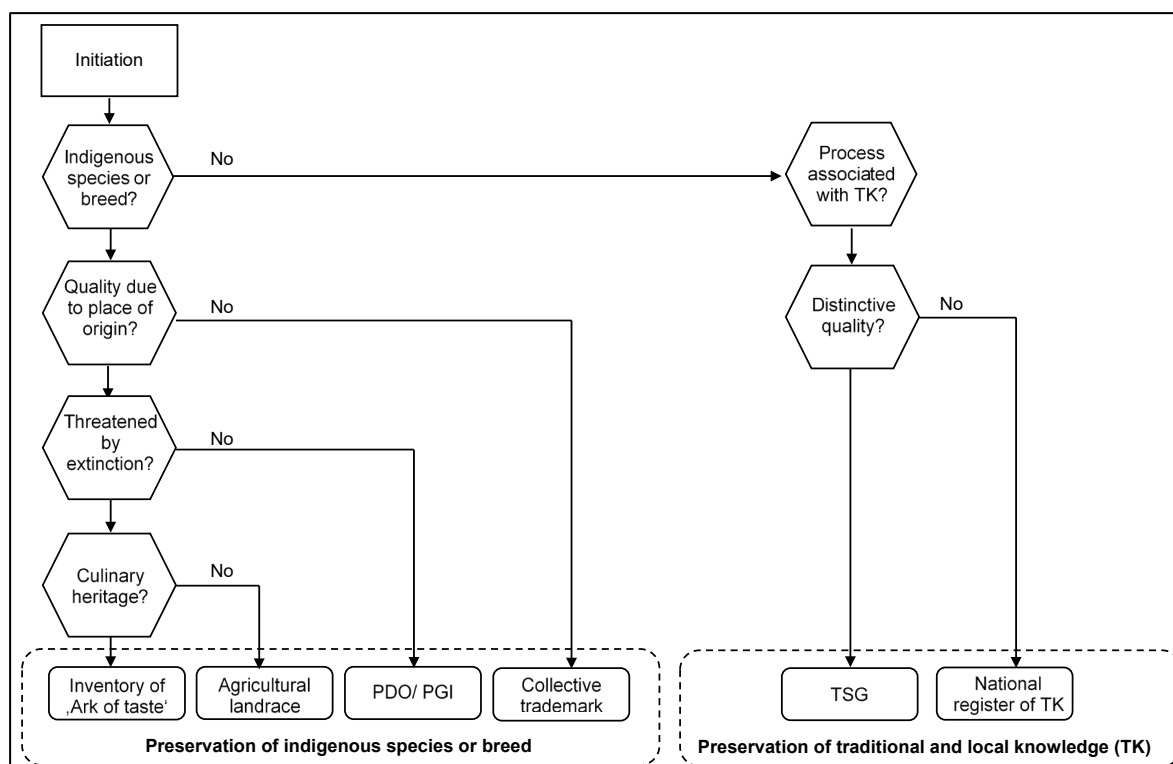
In order to identify differences in the strategy of using intellectual property rights for the preservation of indigenous species or traditional or local knowledge the status quo of these products in the German state of Baden-Württemberg was analysed. The aim was to examine if (a) an inclusion in the Ark of Taste international catalogue of endangered heritage foods maintained by Slow Food or (b) the protection as collective mark under EU trademark law enforces its later protection as geographical indication (GI) or traditional speciality guaranteed (TSG) in the aftermath. In order to answer the above research questions we examined the entry date of indigenous species or traditional or local knowledge products in three different intellectual property right registers. Although the regarding application processes and criteria outlined in the specifications and statutes are not directly comparable results indicate that they support each other.

**Key words:** Ark of Taste, collective marks, EU quality scheme, geographical indications

### Introduction

Intellectual property rights are temporary legal monopolies which provide the holder exclusive rights. World or European-wide intellectual property concepts, rules and mechanisms such as GIs represent an option to control access to local and traditional resources. Furthermore, they ensure the principles of benefit sharing in the exploitation of these, as promoted in the Convention on Biological Diversity. Under the legal framework of the Agreement on Trade Related Aspects of Intellectual Property Rights (TRIPS) by the World Intellectual Property Organization (WIPO) the implementations of the European Commission include regulations and directives on geographical indications or collective marks. Collective marks (CMs) represent a further possibility of protection. This is a trade mark that is registered by an association for its members and lays down the rules of use in a binding statute. CMs can refer to the geographical origin as a special feature.

Graph 1 visualises preservation options for indigenous species and traditional and local knowledge. EU producers or producer groups need to lay down the product's specifications - and its link to the geographical area, if applicable - in order to register the name of a product as a GI or TSG. International and local biodiversity Non-Governmental Organisations (NGOs) such as the International Slow Food Foundation for Biodiversity, ProSpeciesRara, ArcheNoah or - in the case of Baden-Württemberg - 'Genbänke' etc. (Lenz, 2014) may grant intellectual property rights in order to preserve autochthonous species and traditional knowledge.



Graph 1. Decision tree for the preservation options of indigenous species, traditional products and local knowledge. Source: own presentation, modified after Wirsig et al. (2014).

To register the name of a product in the Ark of Taste of the International Slow Food Foundation for Biodiversity or as a CM likewise requires producers or producer groups to elaborate a detailed specification or statute. Respective mandatory and voluntary criteria of the statutes are outlined in Table 1. Despite their many differences, there exist similarities between them e.g. the precondition to describe a traditional method, a distinctive quality or the link to specific area (if applicable) etc. Although the specifications or statutes are not directly comparable, it may be expected that they enforce a later registration as a GI or TSG. Hence, this study aims to answer two research questions:

- Does the inclusion of a product in the international catalogue Ark of Taste favours its later protection under the EU quality scheme?
- Does the registration of a product's name as CM under the EU trademark scheme favours its later registration under the EU quality scheme?

## Material and methods

In order to answer the above research questions we examined the entry date of indigenous species or traditional or local knowledge products from the German state of Baden-Württemberg in three different intellectual property right registers. Those products which are either included in the Slow Food Ark of Taste and/ or the EU eAmbrosia database were examined in this analysis. In the latter case we chose the application date instead of the registration date which is justified by the fact that the EU registration process of GIs and TSGs is lengthy and uncertain about the result. Some products are included in both registers, in total 53 different GIs (and one TSG) from Baden-Württemberg were examined in this study (Table 1). In addition the names of those products were examined for registration as CMs with in national and European trademark registers.

Following data sources were used in the study:

The Slow Food Ark of Taste, an international catalogue of endangered heritage foods maintained by the global Slow Food movement. There are minor inconsistencies between the national (Slow Food, 2021a) and international register (Slow Food, 2021b, Slow Food, 2021c). Ark of Taste products may receive the status as a 'Presidia' in the aftermath if complying with the guidelines in the respective product category.

The EU eAmbrosia database for food, wine & spirit drinks and aromatised wines (EC, 2021). In addition to the EU eAmbrosia database the national register of GIs was used (DPMA, 2021). Aromatised wines were not considered in this study.

The European Union trademark register (EUIPO, 2021a) and national trade marks registers (DPMA, 2021; EUIPO, 2021b). The searchability of collective marks is more difficult and the registers differ in their scope of protection.

Table 1. GIs with identical names from Baden-Württemberg and their regulations in the specification or statutes of intellectual property rights examined in the study

Criteria	Slow Food Foundation of Biodiversity <sup>a</sup>		Collective Mark	EU Quality Scheme <sup>b</sup>		
	Ark of Taste	Presidi		PDO	PGI <sup>c</sup>	TSG
Indigenous species	x	x	v	x	v	v
Traditional method	x	x	v	x	x	x
Local knowledge	x	x	v	x	x	x
Culinary heritage	x	x	v	x	v	v
Distinctive quality	x	x	v	x	x	x
Link to specific area	x	x	v	x	x	n
Risk of extinction	v	x	n	n	n	n
Registered	24	4	9	7	23	1
Applied	-	-	-	1	5	-

x: mandatory, v: voluntary, n: not applicable. <sup>a</sup>Milano et al. (2018), <sup>b</sup>EC (2021). <sup>c</sup> including five GIs for spirit drinks

## Results and discussion

The German state of Baden-Württemberg encompasses a rich culinary heritage of 17 food products, five spirit drinks e.g. 'Schwarzwälder Kirschwasser' GI and eight wines e.g. 'Württemberg' PDO protected as GIs under the EU quality scheme. Furthermore six food products such as 'Württemberger Lamm', 'Schwäbisches Wiesenobst' or Fruit from the Lake Constance are applied as PDO or PGI. In the Slow Food Ark of Taste 24 breeds or species from Baden-Württemberg are included. The majority of these products are fruits, e.g. Bittenfelder Apple. Followed by breeds and animal husbandry e.g. Hinterwälder Cattle and vegetables e.g. 'Höri Bülle' PGI. Four of them are at the same time registered as Slow Food 'Presidi' e.g. the Franconian Grünkern PDO, a traditional processed cereal speciality from a native spelt variety originating from the region of Bauland in the northwest of Baden-Württemberg. Seven Ark of Taste products are also included in the EU GI register (Graph 2). Furthermore nine names of the products examined in this study are protected as CMs.

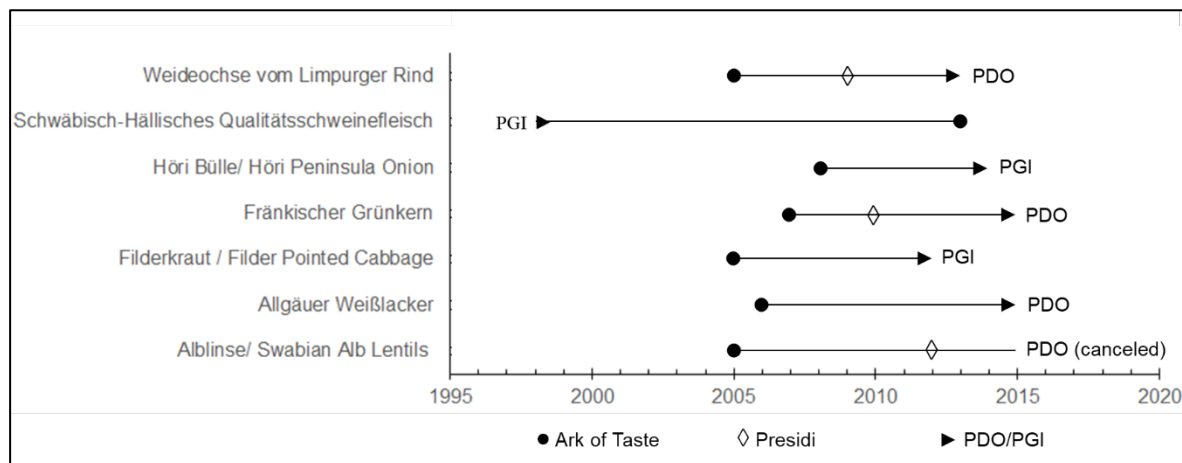
Our analysis reveals three main cluster:

Type A: these designations of origin are characterized by potentially high economic significance in the market. However, their link to local farmers and/ or artisanal food making

may not always be obvious. Typically, they are registered straight under the EU quality scheme, many of them dating back before the millennia. In general, these products are not included in the Ark of Taste – this may nevertheless be an side effect of the comparatively late implementation of the German commission of the Ark of Taste in the early 2000s. In some cases, they may be registered as CM in advance of their protection as GI under the EU quality scheme, e.g. ‘Schwäbisches Wiesenobst’ (in appl.), ‘Württembergischer Lamm’ (in appl.), ‘Hohenloher Rind’ (in appl.) and Fruit from the Lake Constance (in appl.). In rare cases, e.g. for the local breed Swabian-Hall pig, they may be recognized by the Ark of Taste and/ or registered as collective mark in the aftermath of their protection under the EU quality scheme (Graph 2).

Type B: these products typically encompass autochthone species and artisanal or traditional products with limited economic significance in the market (e.g. in the case of the onion variety ‘Höri Bülle’ traditionally cultivated on the Hoeri peninsula on the western shore of Lake Constance or the Limpurg ox the oldest living bovine breed in Wuerttemberg). In general, they are included in the Ark of Taste; some of them even receive the advanced status as Presidia. After a certain period - in average approximately eight years - they receive protection under the EU quality scheme. Whereby the application for the smallest cattle breed in central Europe the Hinterwälder cattle still remains pending and the application for the indigenous Swabian Alb Lentils was cancelled by the applicant (Graph 2).

Type C: these designations of origin are included mainly in the Ark of Taste but usually have a potentially low economic significance e.g. in the case of the old pear variety ‘Palmischbirne’. In general, they are not protected, neither as collective mark nor under the EU quality scheme. Many of them are included in the Red List of endangered foods of the German Federal Office for Agriculture and Food. Those indigenous specialities and traditional or local know-how products would become extinct but of the work of international and local biodiversity NGOs.



Graph 2. Chronological registration of autochthone products from Baden-Württemberg in the Slow Food Foundation of Biodiversity and the EU GI register.

The results in this study affirm our first research question that the inclusion of a product in the international catalogue Ark of Taste may favour its later protection under the EU quality scheme. Although the application process and criteria outlined in the specifications for the Ark of Taste as well as for a Presidio differs compared to those for the application as a GI, the basic information is comparable and results clearly indicate that they support each other. It is noticeable that while the EU Commission is increasingly tightening its criteria with

regard to the genetic origin of GIs - in particular for PDOs, the German commission of the Ark of Taste reduced its requirements in this regard in agreement with the international standard of the Ark of Taste.

Our second research question, however, is not affirmed by the results. There are no clear indications in this study that the registration of a product's name as CM under the EU trademark scheme favours its later registration under the EU quality scheme. A stronger relationship could have been expected against the background of already existing collective trademark statutes as basis for the necessary product specification and the existence of a producer group. However, a greater sample size on the level of EU member states may reveal a stronger correlation.

## Conclusions

Intellectual property rights granted by biodiversity NGOs such as the Slow Food Foundation for Biodiversity can be an important tool to preserve indigenous species or traditional or local knowledge. Furthermore, they may support their protection as GI or TSG under the EU quality scheme in the aftermath.

There are still many varieties, products and heritages to be detected, reanimated and saved. Both for biodiversity and genetic resources reasons, but also as valuable products for regional food supply chains. Therefore, it is necessary to explore the market further for those indigenous specialities and traditional or local know-how - and to promote the work of international and local biodiversity NGOs.

## References

- DPMA (2021). trade mark register and list of all published geographical indications of origin (Regulation (EU) No. 1151/2012). Available from: <https://register.dpma.de/DPMAregister/marke/basis>
- EC (2021). eAmbrosia – the EU geographical indications register. Available from: [https://ec.europa.eu/info/e-ambrosia-database\\_en](https://ec.europa.eu/info/e-ambrosia-database_en)
- EUIPO (2021a). eSearch plus database of European Union trade marks. Available from: <https://euipo.europa.eu/eSearch/>
- EUIPO (2021b). TMview database. Available from: <http://tmview.europa.eu/tmview/welcome.html>
- Lenz R. (2014). Alblinsen and Filderspitzkraut as examples from the Ark of Taste of the Slow Food Foundation for Biodiversity. In: Carstensen J. (Hrsg/Ed.): Pflanzenvielfalt ländlicher Gärten. Internationales Symposium zum Garten-Erbe in Freilichtmuseen. Phytodiversity of Rural Gardens. International Symposium on Garden Heritage at Open-Air Museums. LWL-Freilichtmuseum Detmold, Bd. 36: S. 267-278.
- Milano S., Ponzio R., Sardo R. (2018). The Ark of Taste. How to build the world's largest catalog of flavors. Slow Food Foundation for Biodiversity, Bra, Italy. 26 p.
- Slow Food (2021a). Arche des Geschmacks. Slow Food Deutschland. Available from: [https://www.slowfood.de/was-wir-tun/arche\\_des\\_geschmacks](https://www.slowfood.de/was-wir-tun/arche_des_geschmacks)
- Slow Food (2021b). Ark of Taste database. Slow Food Foundation for Biodiversity. Available from: <https://www.fondazioneSlowFood.com/en/what-we-do/the-ark-of-taste/>
- Slow Food (2021c). Slow Food Presidia database. Slow Food Foundation for Biodiversity. Available from: <https://www.fondazioneSlowFood.com/en/what-we-do/slow-food-presidia/>
- Wirsig A., Profeta A., Häring A., Lenz R., Heisrath W. (2014). Indigenous species, traditional and local knowledge and intellectual property rights. In: Rytkönen P. (ed.): Food and Rurality in Europe. Economy, Environment and Institutions in Contemporary Rural Europe. 29-64. COMREC Studies in Environment and Development 10, Södertön University, Huddinge, Sweden.



## Ekoturizam u zaštićenom području kao faktor održivoga razvoja ruralnih područja - primjer Lonjskog polja

Magdalena Zrakić Sušac<sup>1</sup>, Ivo Grgić<sup>1</sup>, Lea Kunšćević<sup>1</sup>, Lari Hadelan<sup>1</sup>, Mateja Jež Rogelj<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (mzrakić@agr.hr)*

### Sažetak

Ruralni turizam podržava održivi razvoj ruralne ekonomije, a jedan od njegovih oblika je i ekoturizam. Ekoturizam na svjetskim tržištima ostvaruje rastući trend, a obogaćuje lokalnu zajednicu s ekološkog, kulturnog i ekonomskog stajališta. Dohodak iz ekoturizma omogućava financiranje drugih preduvjeta održivog korištenja i upravljanja zaštićenim područjem. Cilj rada je opisati održive oblike turističke ponude na primjeru parka prirode Lonjsko polje. Kroz turističku ponudu koja obuhvaća originalne usluge i proizvode koji su i međunarodni brend moguće je revalorizirati ruralna područja.

**Ključne riječi:** održivi ruralni razvoj, ekoturizam, Lonjsko polje

### Uvod

Prema Zakonu o zaštiti prirode (NN 80/13, 15/18), zaštićeno područje je „geografski jasno određen prostor koji je namijenjen zaštiti prirode i kojim se upravlja radi dugoročnog očuvanja prirode i pratećih usluga ekološkog sustava“. To su područja izdvojena za održavanje funkcionalnosti prirodnih ekosustava, djeluju kao skloništa za mnogobrojne biljne i životinjske vrste te za održavanje ekoloških procesa (Dudley, 2008.). Hrvatska je po prirodnoj bioraznolikosti jedna od najbogatijih europskih zemalja, što pokazuje i podatak da je gotovo 30 % teritorija pod ekološkom mrežom Natura 2000 (Perčin, 2015.). Zaštićena područja danas čine 8,61 % ukupne površine Republike Hrvatske, odnosno 12,32 % kopnenog teritorija i 1,95 % teritorijalnog mora. Najveći dio zaštićenih područja su parkovi prirode (4,90 % državnog teritorija) te su oni iznimno važni za razvoj održivog turizma u ruralnim područjima (HAOP, 2020.). Održivi regionalni razvoj može se postići ukoliko se u obzir uzmu različite perspektive i gospodarske djelatnosti, a jedna od njih je i ruralni turizam (Kantar, 2016.). Važna zadaća zaštićenih područja je stoga unapređenje ekonomije ruralnih područja. Ekoturizam predstavlja multidisciplinarnu djelatnost s rastućim trendom te je jedan od rastućih oblika turizma koji jača lokalnu zajednicu s ekološkog, kulturnog i ekonomskog stajališta. Dohodak ekoturizma omogućava financiranje ostalih čimbenika održivog korištenja i upravljanja zaštićenim područjem. Glavna značajka ekoturizma je povezivanje turista s lokalnim stanovništvom, smanjivanje negativnog utjecaja na prirodu te održivo korištenje prirodnih resursa, ali i educiranje posjetitelja o ekološkim načelima te važnosti očuvanja prirode (Ćurlin, 2018.). Na taj način se turistima i lokalnom stanovništvu potiče ekološka svijest i takvim oblikom turizma posjetitelji se upoznaju i povezuju s prirodnim i kulturnim znamenitostima. Također, turizam utječe na budućnost zaštićenih područja (Golub i Jaković, 2019.) jer donosi potencijalne koristi poput porasta prihoda lokalne zajednice, prilike za zapošljavanje, diversifikacije ekonomskih aktivnosti, smanjenja prostorne i društvene nejednakosti, porasta društvene i okolišne svijesti, rekreacije te doprinosi dobrobiti ljudi (Interreg, 2020.). Cilj rada je opisati održive oblike turističke ponude parka prirode (PP) Lonjsko polje.

## Rezultati i rasprava

PP Lonjsko polje smješten je u središnjem dijelu Hrvatske, u području srednjeg toka rijeke Save. S površinom od 506 km<sup>2</sup> to je najveće zaštićeno močvarno područje u Hrvatskoj. Oko 93 % područja proteže se kroz Sisačko-moslavačku županiju dok se manji dio nalazi na području Brodsko-posavske županije. PP Lonjsko polje obuhvaća devet jedinica lokalne samouprave i četrnaest ruralnih naselja. Cijelo područje Parka čine livade, pašnjaci i poplavne šume te tri močvarna polja: Lonjsko, Mokro i Poganovo polje (OIKON, 2019.). Uz domaće simentalsko govedo, na tom području nalazi se najveća koncentracija autohtonih pasmina u Hrvatskoj. Konji hrvatski posavac i hrvatski hladnokrvnjak, turopoljska svinja i slavonsko-srijemsko podolsko govedo su izvorne pasmine na tom području (Galeski i sur., 2012.).

Na prostoru PP Lonjsko polje nalaze se dva ornitološka rezervata; Krapje Đol (zaštićen 1963. godine) i Rakita (zaštićen 1969. godine). Godine 1989. Lonjsko polje je proglašeno područjem međunarodne važnosti za ptice jer broji 250 ptičjih vrsta (IBA – Important Bird Area), a 1990. godine je proglašeno parkom prirode. Godine 1993. uvršten je na Ramsarski popis i dobiva međunarodno značenje. Selo Čigoč, koje se nalazi na području Parka, zaštićeno je 1994. godine kada ga je njemačka Zaklada za zaštitu prirode EURONATUR prozvala prvim Europskim selom roda jer se na krovovima drvenih kuća nalaze gnijezda. Područje PP Lonjsko polje uvršteno je 2005. na pristupnu listu UNESCO-ove liste svjetske baštine u kategoriji mješovitog dobra, prirodnih i kulturnih znamenitosti. Ulaskom Hrvatske u Uniju, područje Parka postalo je dio europske ekološke mreže NATURA 2000 (Hendija i sur., 2016.). PP Lonjsko polje obuhvaća najveću i najstariju hrastovu šumu u Europi (Galeski i sur., 2012.). Da područje Parka karakterizira veliko biljno bogatstvo dokazuje podatak da je PP Lonjsko polje uvršteno na popis Botanički važnog područja (IPA - Important Plant Area), iznimne botaničke raznovrsnosti zbog znatnog broja rijetkih i ugroženih svojiti (OIKON, 2019.). Osim prirodnih znamenitosti, područje Parka jedinstveno je zbog tradicionalnog poljodjelstva i stočarstva te ima bogatu kulturnu baštinu. Ona se sastoji od kulturnih znamenitosti uz Savu te posavskih sela gdje ljudi žive tradicionalnim načinom života zajedno s prirodom i obnavljaju stare zanate. Sedam sela uspjelo je zadržati svoju karakterističnu strukturu, tradicionalnu posavsku arhitekturu, pokretna kulturna dobra (starinski predmeti, alati i uređaji) i nematerijalnu kulturnu baštinu (tradicijske vještine, obrti, rukotvorine, običaji, folklorno stvaralaštvo u području glazbe i plesa). Selo Krapje je zbog sačuvanih starih kuća i ugođaja koje pruža proglašeno „Selom graditeljske baštine“ (Žinić, 2018.).

Veliki problem područja je depopulacija, stanovništvo je starije životne dobi i većinom je neobrazovano te slabijeg imovinskog stanja što pokazuje podatak da je čak 53,7 % njih s područja PP Lonjsko polje nepismeno ili nema završenu osnovnu školu (OIKON, 2019.). Prema istraživanju Svržnjak i sur. (2011.) ograničavajući čimbenici za razvoj ruralnog turizma, uz već navedene, su i poznavanje stranih jezika, informatička pismenost i stručna osposobljenost za pružanje usluga u ruralnom turizmu kao i nedovoljna turistička promocija kraja.

### Održivo upravljanje Parkom prirode Lonjsko polje

Dokument „Studija upravljanja posjetiteljima Parka prirode Lonjsko polje“ sadrži smjernice za održivo korištenje prirodnih resursa područja. Studijom je utvrđen prostorni kapacitet odnosno kapacitet nosivosti, provedeno je vrednovanje područja, izrađena je karta vrijednosti područja za biološku raznolikost te su na temelju toga određene zone zaštite i zone posjete. Prostorni kapacitet određen je za četiri pješačke staze koje su najpopularnije te stvaraju velik pritisak na okoliš i potrebno je regulirati broj posjetitelja radi očuvanja biološke raznolikosti i prirodnih vrijednosti. Za stazu koja se nalazi u selu Čigoč maksimalan broj posjetitelja iznosi 210, za Stazu Posavaca 200, Stazu graničara 75 i za Koščevu stazu

300 posjetitelja dnevno što znači da je ukupan broj posjetitelja na sve četiri lokacije 785. Ograničavanjem broja posjetitelja nastoje se očuvati i zaštititi vrijednosti koje su temelj proglašavanja tog područja zaštićenim (OIKON, 2019.).

#### Turistička ponuda Parka prirode Lonjsko polje

Turističku ponudu čine edukativni programi, prostor seoskog turizma, pješačke staze i biciklističke rute te različite aktivnosti u prirodi poput promatranja ptica, vožnje konjskom zapregom te čamcem i kanuom (Galeski i sur., 2012.). U PP Lonjsko polje postoje četiri informativno-edukacijska centra u kojima se provodi prihvata posjetitelja/turista (Čigoč, Krapje, Repušnica i Osekovo) odakle se posjetitelji mogu dalje uputiti u razgledavanje Parka. Programi za posjetitelje su prvenstveno namijenjeni učenicima osnovnih i srednjih škola te članovima eko grupa i oni su najbrojniji posjetitelji Parka (do 80 %), dok ostatak posjetitelja čine domaći turisti. Potrebno je naglasiti kako su turisti izvan informativno-edukacijskih središta prepušteni sami sebi (Galeski i sur., 2012.). Rekreativni sadržaj, na području Parka, obuhvaća pješačke i biciklističke rute, promatranje ptica i vožnju kanuima (Gugić, 2010.). Pješačke staze su Staza graničara, Staza Posavca, Tenina staza i Košćeva staza. Biciklističke rute kroz Lonjsko polje nisu posebno izgrađene već se koriste postojeći putovi i prometnice na kojima je mala gustoća prometa. Desetak turističkih seoskih gospodarstava cikloturistima nude „bike and bed“ smještaj. Biciklističke rute u Parku povezane su s rutama u cijeloj Sisačko-moslavačkoj županiji i ukupno ih ima sedam (Galeski i sur., 2012.). Park prirode Lonjsko polje nudi i posebne turističke atrakcije poput vožnje plovilom Vodomar, prelaska rijeke Save tradicijskom skelom i vožnju čamcima na solarni pogon.

#### Kulturna baština i manifestacije

Posjetitelji PP Lonjsko polje mogu razgledati privatne etnološke zbirke, kojih je u području Parka četiri, a svaka ima i do nekoliko stotina vrijednih eksponata. To su Etnološke zbirke obitelji Sučić, Palaić i Ravlić te Udruga radionice narodno tkivo i vezivo. Posjetitelji tijekom cijele godine mogu sudjelovati na brojnim manifestacijama i imaju priliku vidjeti stanovnike toga kraja u narodnim nošnjama, naučiti tradicionalnu izradu vezova, ribolova starim alatima, izgradnju drvenih kuća te mogu kušati specijalitete toga kraja izrađene pomoću recepata predaka i slično. Od manifestacija se ističu: Dan europskog sela roda u Čigoču, Dani europske baštine u Krapju i Konjogojska izložba u Sunji (Galeski i sur., 2012.).

#### Smještajni kapaciteti

Na području Parka ponuda smještaja moguća je na turističkim seoskim obiteljskim gospodarstvima u tradicionalnim drvenim kućama koje su prenamijenjene za turiste i njihov odmor te im pružaju jedinstven doživljaj života na selu (Gugić, 2010.). U 2010. godini bila su registrirana 23 turistička seoska gospodarstva s ukupno 62 sobe i 134 kreveta (Gugić, 2010.), u 2018. godini evidentirane su 73 sobe i 155 kreveta (OIKON, 2019.) te se prema Javnoj ustanovi Parka prirode Lonjsko polje trenutno na tom području nalazi 21 smještajni objekt. Dva objekta ne nalaze se na području Parka, već u njegovoj blizini, u Sisku i Kutini, koji su na raspolaganju za smještaj većeg broja posjetitelja (2 hotela). Na području Parka, ostalih 19 gospodarstava nudi ukupno 190 kreveta.

#### Gastronomska ponuda

Područje Lonjskog polja poznato je po jedinstvenim i prepoznatljivim tradicionalnim proizvodima, a to su: kravlji sir od mlijeka s paše, tradicijski proizvodi kolinja, tradicijski proizvodi od konjskog mesa, med te domaći kukuruz i grah kukuruzar (uključujući brašno) (Gugić, 2010.). S obzirom da se na području Parka nalazi autohtona hrvatska pasmina,

turopoljska svinja, koja je ujedno i jedna od najstarijih europskih pasmina, važno je istaknuti njene proizvode koji su zaštićeni brand. Lokalno stanovništvo proizvode turopoljske svinje smije prodavati pod točno definiranim uvjetima kojima se štiti njihova originalnost (OIKON, 2019.). Od tradicionalnih jela ističu se različite vrste juha, meso s roštilja i ispod peke, kotlovina, odojci ili janjci s ražnja, gulaš od divljači, a uz meso najčešći prilozi su krumpir, različito povrće, domaća tjestenina i mlinci te umaci od gljiva i vrhnja. Često se pripremaju i razne vrste riječnih riba, a najpoznatiji je šaran na rašljama te fiš paprikaš. Od slastica, odnosno tradicionalnih kolača ističu se orahnjača i makovnjača, štrudle od voća, bučnica, buhtle i dizani kolači (Galeski i sur., 2012.).

### Lov i ribolov

Na području Parka dostupno je 13 lovišta od kojih je 11 državnih, a dva su zajednička otvorena lovišta. Za ornitološke rezervate, Krapje Đol i Rakita, sastavljeni su programi zaštite divljači koji se izrađuju za područja na kojima je prema Zakonu o lovu zabranjeno ustanovljavanje lovišta (OIKON, 2019.). Razvoj ribolova na području Lonjskog polja je povoljan zbog velikog broja vodenih površina koje su pogodne za prirodno mrjestilište riba, posebice za mrijest šarana, smuđa i soma, no mogu se pronaći i babuške, plotice i deverike. To područje poznato je po tradicijskom ribarstvu koje predstavlja ekološki i održiv sustav ribarenja pomoću alata od prirodnih materijala. Tradicijski ribolov proglašen je nematerijalnim kulturnim dobrom, no trenutno ga nije moguće zakonski provoditi (OIKON, 2019.).

### Posjećenost i broj noćenja u Parku prirode Lonjsko polje

U Parku prirode Lonjsko polje zadnjih nekoliko godina dolazi do stalnog povećanja broja posjetitelja te broja noćenja na gospodarstvima koja se nalaze na području Parka. U 2011. godini PP Lonjsko polje posjetilo 14.650 turista, dok je taj broj u 2018. godini iznosio oko 18.000 (povećanje od 22,9 %). U tom periodu nešto više od 50 % čine domaći posjetitelji (Birkić i sur., 2019.). Najviše stranih posjetitelja čine Nijemci s 27 %, a zatim slijede Francuzi i Belgijanci koji zajedno čine 30 % od ukupnog broja stranih posjetitelja. Od ukupnog broja posjetitelja njih 49 % dođe preko turističkih agencija u organiziranim grupnim posjetama, 28 % čine individualne i obiteljske posjete, a preostalih 23 % su učenici s područja Sisačko-moslavačke županije koji dolaze na edukativne radionice. U 2014. godini broj noćenja u PP Lonjsko polje iznosio je oko 3.000, dok je u 2018. godini ostvareno nešto više od 4.500 noćenja, od čega 82,7 % čine strani gosti, a ostalih 17,3 % odnosi se na domaće turiste (OIKON, 2019.).

### Zaključak

Zaštićena područja prirode nužna su za očuvanje bioraznolikosti, ali imaju važnu ulogu za odvijanje turističke djelatnosti nekog područja. Ekoturizam u Lonjskom polju danas omogućuje održivi razvoj područja kroz pomno planiranje tustičkih aktivnosti i ekonomično korištenje prirodnih resursa. Park prirode Lonjsko polje nudi međunarodno priznat moderan turistički sadržaj stvarajući nove vrijednosti uz očuvanje prostora, kulture i tradicije područja.

### Napomena

Rad je izvod iz diplomskog rada studentice Lee Kunštović naziva „Održivo korištenje Parka prirode Lonjsko Polje“, obranjenog 22. 9. 2020. godine na Agronomskom fakultetu u Zagrebu (mentor: prof. dr. sc Ivo Grgić).

## Literatura

- Birkić D., Primužak A., Barić D. (2019). Interpretacija kao alat očuvanja prirodnih i kulturnih vrijednosti zaštićenog područja na primjeru parka prirode Lonjsko polje. Zbornik radova Međimorskog veleučilišta u Čakovcu. 10 (1): 13-21.
- Ćurlin H. (2018). Održivi turizam u zaštićenim područjima na primjeru Parka prirode Medvednica. Diplomski rad, Zadar, Hrvatska: Sveučilište u Zadru.
- Dudley N. (2008). Guidelines for Applying Protected Area Management Categories. Gland, Switzerland: IUCN.
- Galeski P., Horvat Lj., Tomašić M., Vugrinović A. (2012). Marketing plan područja Parka prirode Lonjsko polje za razdoblje od 2013. do 2020. godine. Hrvatska: Sisačko-moslavačka županija.
- Golub B., Jaković B. (2019). Stavovi turističkih zajednica o uključivanju lokalnog stanovništva u razvoj turizma u zaštićenim područjima prirode: primjer Regionalnog parka Mura-Drava. Oeconomica Jadertina. 9 (2): 3-20.
- Gugić G. (ur.) (2010). Bilten parka prirode Lonjsko Polje; Strategija razvoja održivog turizma Parka prirode Lonjsko polje. Javna ustanova Park prirode Lonjsko polje. Raspoloživo: [https://rsis.ramsar.org/RISapp/files/48561580/documents/HR584\\_lit191011.pdf](https://rsis.ramsar.org/RISapp/files/48561580/documents/HR584_lit191011.pdf)
- HAOP – Hrvatska agencija za okoliš i prirodu: Što je zaštićeno područje. Raspoloživo: <http://www.haop.hr/hr/tematska-podrucja/zasticena-podrucja/zasticena-podrucja/sto-je-zasticeno-podrucje> – pristup 01.09.2020.
- Hendija Z., Bartoluci F., Stanivuković I. (2016). Mogućnosti održivog razvoja turizma u Parku prirode Lonjsko polje. Četvrta međunarodna konferencija "Inovacije, tehnologije, edukacija i menadžment", Breslauer N. (ur.), 69-78. Sv. Martin na Muri, Hrvatska: Međimursko veleučilište u Čakovcu.
- Interreg (n.d.) Priručnik o uspješnim i inovativnim praksama za održivi turizam u zaštićenim područjima. Raspoloživo: <https://www.interreg-central.eu/Content.Node/Handbook-Sustainable-Tourism-HR-CEETO-Interreg.pdf>
- Kantar S. (2016). Razvoj održivog ruralnog turizma: Potencijali Koprivničko-križevačke županije. Doktorski rad. Zagreb, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu Filozofski fakultet.
- OIKON (2019). Institut za primijenjenu ekologiju. Studija upravljanja posjetiteljima PP Lonjsko polje, Zagreb. Raspoloživo: <https://pp-lonjsko-polje.hr/wp-content/uploads/2020/01/Studija-upravljanja-posjetiteljima-za-Park-prirode-Lonjsko-polje-1.pdf>
- Perčin A. (2015). Pisana predavanja iz modula „Gospodarenje u ekološki osjetljivim područjima“, Zagreb.
- Svržnjak K., Pugelnik I., Kantar S. (2011). Ograničavajući čimbenici razvoja ruralnog turizma Lonjskog polja. Praktični menadžment. 2 (1): 27-32.
- Žinić I., (ur.) (2018). Županijska razvojna strategija Sisačko-moslavačke županije 2017. - 2020. Hrvatska: Sisačko-moslavačka županija.

## Ecotourism in a protected area as a factor of sustainable development of rural areas - the example of Lonjsko polje

### Abstract

Rural tourism supports the sustainable development of the rural economy. Ecotourism is a global trend and benefits the local community from an ecological, cultural and economic point of view and provides a source of funding for sustainable use and management of the protected area. The aim of this paper is to describe sustainable forms of tourist offer on the example of the Lonjsko polje nature park. Through a tourist offer that includes original services and products that are also an international brand, it is possible to revitalize rural areas.

**Key words:** sustainable rural development, ecotourism, Lonjsko polje

**Genetika,  
 oplemenjivanje bilja  
 i sjemenarstvo**

**03**

**Genetics,  
 Plant Breeding and  
 Seed Production**



## Morfološka i molekularna karakterizacija sorte masline 'Krvavica' s područja skradinskog zaleđa

Snježana Bolarić<sup>1</sup>, Aleš Vokurka<sup>1</sup>, Gordana Kožarić Silov<sup>2</sup>, Zorica Kauf<sup>1</sup>, Kristina Batelja Lodeta<sup>1</sup>, Đani Benčić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska (avokurka@agr.hr)

<sup>2</sup> Ministarstvo poljoprivrede, Uprava za stručnu podršku razvoju poljoprivrede i ribarstva, Velimira Škorpika 13b, Šibenik, Hrvatska

### Sažetak

Cilj istraživanja je morfološki opisati i utvrditi genetski profil skradinske sorte masline 'Krvavica' te usporediti njen SSR profil s SSR profilima sorata u javno dostupnim bazama u svrhu potvrđivanja njenog jedinstvenog genotipa. Na temelju morfoloških svojstva stabla, lista, cvata, cvijeta, ploda i koštice dan je opis sorte 'Krvavica'. Pomoću 11 dogovornih SSR markera utvrđen je genetski profil 'Krvavice' i njegovom usporedbom s do sada opisanim sortama maslina utvrđeno je sorta 'Krvavica' s područja Skradinskog zaleđa ima jedinstven genetski profil.

**Ključne riječi:** *Olea europaea* L., fenotip, DNA identifikacija, SSR markeri

### Uvod

Od početka domestikacije, maslina je vegetativno razmnožavana s ciljem iskorištenja najboljih kombinacija gena koje su proizašle iz slobodne oplodnje i mutacija. Kao rezultat toga danas je prisutan velik broj sorata (Carriero i sur., 2002.), čiji broj se procjenjuje na oko 1200, s oko 3000 sinonima. Evaluacija i opis sorata masline je presudna, a sama identifikacija sorata je komplicirana uslijed postojanja velikog broja sinonima i homonima, intenzivne razmjene biljnog materijala, prisutnosti unutar sorte varijabilnosti kao i problema certificiranja materijala u rasadnicima (Taamalli i sur. 2006.). Skradinsko zaleđe ima tradiciju uzgoja maslina i proizvodnja maslinovog ulja, a to područje je ujedno i krajnji rub mediteranske regije, gdje se masline uzgajaju na dubokim tlima. Na tom je području u proizvodnji maslinovog ulja u velikom udjelu zastupljena sorta masline 'Krvavica'. Zbog velikog zanimanja struke i proizvođača za intenzivnim uzgojem 'Krvavice' javlja se potreba za njenom revitalizacijom, a time i potreba za pouzdanim opisom sorte koji bi omogućio pouzdanu identifikaciju na morfološkoj i molekularnoj DNA razini. Klasični pristup u opisivanju i identifikaciji sorata zasnivao se na opisu njezinih morfoloških svojstava čija ekspresija, iako genetski uvjetovana, može biti pod većim ili manjim utjecajem okolinskih faktora. Prve opise maslina na temelju morfoloških svojstava dali su Bulić, (1921.), Marčić (1923.) i Hugues (prijevod i reprint, 1999.), a u novije vrijeme Bakarić (2002., 2005a., 2005b., 2007.). Međutim, sigurnoj identifikaciji sorata maslina uvelike je pridonijela primjena DNA analiza, u prvom redu SSR molekularnih markera (mikrosatelita) koji DNA profiliranjem nadopunjuju morfološke opise i na taj način nadilaze dvojbene slučajeve identifikacije sorata uzrokovane djelovanjem okolinskih faktora na ekspresiju morfoloških svojstava. Mikrosatelitske regije su vrlo rašireni segmenti zastupljeni unutar čitavog genoma, kodominantne su prirode, vrlo su polimorfni i informativni, a analize su ponovljive i usporedive između različitih laboratorija (Rafalski, 1996., Kumar i sur., 2009.), za što je ipak potrebna vještina i tehnička obuka. Prvu genotipizaciju sorata maslina na području Hrvatske su primjenom SSR markera proveli Štambuk i sur. (2007.). U genotipizaciju su



bile uključene sorte masline s dubrovačkog područja, među kojima je bila i sorta 'Krvavica' s otoka Šipana. Rezultati tih istraživanja potvrdili su pretpostavku da je 'Krvavica' istovjetna sorti 'Murgulja', tj. da je njen sinonim. S obzirom da se na dubrovačkom području sorta 'Krvavica' (sin. 'Murgulja') uzgaja kao stolna sorta, za razliku od skradinske 'Krvavice' koja je isključivo uljna sorta, Crnica (2011.) je primjenom SSR markera, utvrdila da skradinska sorta 'Krvavica' nije istovjetna 'Murgulji', a isto tako niti 'Krvavici' s dubrovačkog područja gdje se uzgaja za proizvodnju ulja. Također je prilikom genotipizacije hrvatskih sorata masline SSR markerima utvrđeno da skradinska 'Krvavica', nije istovjetna niti jednoj drugoj hrvatskoj sorti (podaci još nisu objavljeni).

Cilj istraživanja je dati morfološki opis i genetski (SSR) profil skradinske sorte masline 'Krvavica' te usporediti njen SSR profil s SSR profilima sorata masline u javno dostupnim bazama *Olea Database* (<http://www.oleadb.it/>) i *Worldwide Olive Germplasm Bank of Córdoba-WOBGC* (Trujillo i sur., 2013.) u svrhu potvrđivanje njenog jedinstvenog genotipa.

### Materijal i metode

Proučavana stabla masline 'Krvavica' nalaze se na području Skradina na lokacijama Ićevo i Drače (udaljeno oko 800 m od lokacije Ićevo). Opažanje morfoloških svojstava obavljeno je na tri stabla starija od 150 godina i na tri stabla u masliniku novijeg datuma. Budući da se morfološki opis 'Krvavice' vršio u zatečenim nasadima, bez prisutnosti referentnih sorata za procjenu ekspresije pojedinog svojstava, preferirano je njihovo izravno mjerenje. Za nemjerljiva svojstva, morfološki opis je izveden uz pomoć ocjena (Kauf, 2008.). Mjerenje svojstava rodnih izboja, listova i cvatova provedeno je na uzorcima od po 25 tipičnih biljnih organa po stablu, dok su svojstva ploda i koštice mjerena na uzorku od po 50 plodova i koštica po stablu. Uzorci izboja, cvatova i plodova nasumično su uzeti sa cijelog stabla.

Za SSR analizu uzeti su uzorci mladih listova 'Krvavice'. Uzorci listova osušeni su u liofilizatoru (*Christ Beta 1-8*) i samljeveni u fini prah pomoću oscilatornog mlina (*T Verter, N2-series*). Izolacija DNA molekula iz lista izvedena je kitom *DNeasy Plant Mini Kit* (Qiagene). Količina izolirane DNA utvrđena je pomoću fluorimetra *VersaFluor ver. 170-2402EDU* (Biorad) i razrjeđena je na radnu koncentraciju  $5 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ . Za SSR analizu korišteno je 11 dogovornih SSR početnica specifičnih za maslinu (Baldoni i sur., 2009.) obojenih s fluorescentnim bojama (Dye) (Tablica 1).

Tablica 1. SSR početnice korištene u molekularnoj karakterizaciji sorte masline 'Krvavica'

Naziv početnice	Dye	Naziv početnice	Dye	Naziv početnice	Dye
ssrOeUA-DCA3	6Fam	ssrOeUA-DCA16	6Fam	GAPU-101	6Fam
ssrOeUA-DCA5	Ned	ssrOeUA-DCA18	Ned	GAPU-103A	Vic
ssrOeUA-DCA9	Vic	UDO099-043	Vic	EMO90	Vic
ssrOeUA-DCA14	Ned	GAPU-71B	6Fam		

PCR reakcija volumena  $10 \mu\text{l}$  sadržavala je 1x PCR reakcijski (10 mM Tris-HCl pH 8,3; 50 mM KCl; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich, SAD), 0,2 mM svakog nukleotida (dATP, dCTP, dGTP i dTTP; Sigma-Aldrich), po 0,8  $\mu\text{M}$  F i R početnice (Applied Biosystems, SAD u daljnjem tekstu AB), Taq polimerazu (Sigma-Aldrich) i genomsku DNA. DNA fragmenti su amplificirani prema touch-down protokolu (Thiel i sur., 2003.) u thermal cycleru Veriti™ 96-Well (AB) u sljedećim temperaturnim uvjetima: početni korak denaturacije na 95 °C 5 min; osam touch-down ciklusa [30 sek na 95 °C, 30 sek na 62 °C (temperature nalijeganja početnice je sa svakim ciklusom smanjena za po 1 °C), i 30 sek na 72 °C], zatim 28 ciklusa pri temperaturnim uvjetima 30 sek na 95 °C, 30 sek na 55 °C, i 30 sek na 72 °C; i na kraju

završni korak elongacije 5 min na 72 °C. Amplificirani fragmenti DNA razdvojeni su u kapilarnoj elektroforezi (Genetic Analyzer 3130, AB), a njihova veličina utvrđena je pomoću *GeneScan™ 500 LIZ™ dye size* standarda (AB). Duljine fragmenata su harmonizirane, tj. uzet je u obzir “pomak” (razlika) od jednog ili više nukleotida za isti alel prisutan na istoj sorti u više baza podataka. Ovo je učinjeno na temelju referentnih sorata čija autentičnost nije upitna i koje su prisutne istovremeno u našem istraživanju i u navedenim bazama.

## Rezultati i rasprava

Stabla ‘Krvavice’ i njihovi pojedini organi (izboji, list, plod, itd.) opisani su prema UPOV deskriptoru (UPOV, 1985.) (Tablica 2). Iako je riječ o morfološkim svojstvima koja su za sortu više ili manje konstantna tj. genetski uvjetovana i pod manjim utjecajem okoline, na ekspresiju pojedinih od tih svojstava ipak ima utjecaj okolina, poput bujnosti krošnje.

Stabla 'Krvavice' uključena u analizu su vrlo bujna što, slijedom rečenoga, može biti rezultat dubine tla na lokaciji na kojoj je izvršena ocjena. Grane su uspravnog (erektilnog) rasta i tvore gustu krošnju. Duljina internodija rodni izboja je u prosjeku 14,59 mm, a njihova boja je sivo zelena. Duljina lista je prosječno 52,60 mm, a širina 13,44 mm, pri čemu prosječni omjer duljine i širine, kao vrlo konzervativni morfološki element, iznosi 3,94. Oblik lista je eliptično-kopljast i nema sjaja, uzduž osi plojke je ravan do konveksan, a zakrenutost (u obliku spirale) nije uočena. Parametri boje prema RHS referentnim vrijednostima su 139A za lice i 193A za naličje. Cvat se sastoji od prosječno 10,5 cvjetova, sa značajnim udjelom razgranjenosti iz baze, pa indeks razgranjenosti kod 'Krvavice' iznosi 1,3. Duljina cvatne osi je u prosjeku 2,43 cm, a pazušni cvjetovi nisu učestali. Duljina cvjetnog pupa neposredno prije otvaranja je 2,39 mm, a njegova širina 3,72 mm. Boja ploda je tamno ljubičasta, duljina je u prosjeku 20,73 mm, a širina 16,04 mm i indeks omjera duljine i širine iznosi 1,29. Prosječna masa deset plodova je 30,71 g. Prosječna duljina koštice je 14,8 mm, širina 8,21 mm, a indeks omjera duljine i širine koštice je 1,81, što je morfološko svojstvo pod minimalnim utjecajem okoline.

Tablica 2. Morfološka svojstva skradinske sorte masline 'Krvavica'

	Svojstvo	Opis		Svojstvo	Opis
stablo	<i>bujnost</i>	velika	cvat	<i>broj grana</i>	avg = 1,30
	<i>položaj grana</i>	uspravan		<i>broj cvjetova</i>	avg = 10,50
	<i>gustoća krošnje</i>	gusta		<i>duljina cvatne osi (cm)</i>	avg = 2,43
rodni izboj	<i>duljina internodija (mm)</i>	avg = 14,59	pazušni cvjetovi		rijetka pojava
	<i>boja</i>	sivo zelena		cvijet	<i>duljina pupa (mm)</i>
list	<i>duljina (mm)</i>	avg = 52,60			<i>širina pupa (mm)</i>
	<i>širina (mm)</i>	avg = 13,44	plod	<i>boja ploda</i>	tamno ljubičasta
	<i>omjer d/š</i>	avg = 3,94		<i>d - duljina (mm)</i>	avg = 20,73
	<i>sjaj</i>	bez sjaja	<i>š - širina (mm)</i>	avg = 16,04	
	<i>boja lica (RHS*)</i>	139A	<i>omjer d/š</i>	avg = 1,29	
	<i>oblik</i>	eliptično-kopljast	<i>masa 10 plodova (g)</i>	avg = 30,71	
	<i>boja naličja lica (RHS*)</i>	193A	koštica	<i>d - duljina (mm)</i>	avg = 14,80
	<i>zakrenutost (twisting)</i>	odsutna		<i>š - širina (mm)</i>	avg = 8,21
	<i>zakrivljenost osi plojke</i>	ravan do konveksan		<i>omjer d/š</i>	avg = 1,81

\* RHS colour chart – the standard reference for plant colour identification. Royal Horticultural Society.

Na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (UniZg) pomoću dogovornih SSR markera (Baldoni i sur., 2009.) izrađen je genetski profil skradinske sorte 'Krvavica' (Tablica 3) čiji su aleli nakon harmonizacije usporedivi s veličinama alela u javno dostupnim bazama

pa su kao takvi i usporedivi s alelima iz genetskih profila sorata maslina zastupljenih u bazama OleaDB i WOBGC, i to posredstvom referentnih sorata čiji genetski profil je poznat. Razlika u duljini pojedinih alela referentnih sorata između baza i aktualnog istraživanja, ukoliko postoji, iznosi najviše četiri nukleotida, ali su te razlike konzistentne za bilo koju grupu referentnih sorata, odnosno dužinu pojedinih alela. Te razlike su tehničke prirode i proizlaze iz načina očitavanja uređaja za kapilarnu elektroforezu koji npr. za svaki alel prikazuju po dva ili čak tri grafička "vrha", jedan do drugoga, koji se razlikuju za jedan nukleotid, ali je isto tako moguć pomak određenog alela za dva ili tri nukleotida, što je uobičajeno kod laserskog očitavanja fluorescentnih fragmenata u kapilarnim elektroforezama, pa zahtijeva harmonizaciju rezultata kod njihove usporedbe između različitih laboratorija (Wang i sur., 2018.). Ovakve razlike se pojavljuju i u usporedbi između rezultata za 'Krvavicu' i dviju navedenih baza, međutim riječ je o istim, identičnim alelima. Usporedbom genetskog profila sorte 'Krvavica' sa usporedbom drugih sorata genotipiziranih u Hrvatskoj (podaci nisu prikazani), kao i njenom usporedbom s profilima sorata zastupljenima u bazama SSR profila OleaDB i WOBGC ustanovljeno je da je genetski profil skradinske 'Krvavice' jedinstven i da nema niti jednog drugog genotipa masline identičnog genetskog profila unutar germplazme maslina koja je do sada genotipizirana.

Tablica 3. Genetski profil sorte 'Krvavice' (UniZg) i istovjetni aleli prisutni u bazama SSR profila maslina OleaDB i WOBGC, izražena u parovima baza (bp)

SSR početnica	UniZg	OleaDB	WOBGC
ssrOeUA-DCA3	233/249	232/249	229/245
ssrOeUA-DCA5	205/205	206/206	203/203
ssrOeUA-DCA9	194/204	194/204	192/202
ssrOeUA-DCA14	180/190	181/191	- / -
ssrOeUA-DCA16	150/175	150/174	148/173
ssrOeUA-DCA18	179/179	177/177	174/174
UDO099-043	174/210	174/212	172/210
GAPU-71B	127/141	130/144	127/141
GAPU-101	190/200	191/201	189/199
GAPU-103A	136/159	136/159	133/157
EMO90	185/187	186/188	181/183

## Zaključak

U ovom radu prikazan je morfološki opis skradinske sorte 'Krvavica' na bazi morfologije lista, cvata, ploda i koštice. Prvi put je prikazan i genetski profil sorte 'Krvavica' pomoću dogovornih SSR markera. Usporedbom genetskog profila 'Krvavice' s genetskim profilima sorata masline u Hrvatskoj i sortama zastupljenim u bazama OleaDB i WOBGC zaključujemo da je 'Krvavica' s područja skradinskog zaleđa jedinstvena sorta i da nema niti jednog genotipa istog genetskog profila unutar germplazme maslina koja je do sada genotipizirana.

## Napomena

Ova istraživanja rezultat su projekta *Genetska identifikacija masline 'Krvavica'* kojeg je financirao grad Skradin.

## Literatura

- Bakarić P. (2002). Sorte maslina Dubrovačkog primorja. Alfa 2 d.o.o., Dubrovnik. ISBN 953-98233-0-8  
 Bakarić P. (2005a). Stare konavoske sorte maslina. Dubrovnik. ISBN 953-98233-8-2  
 Bakarić P. (2007). Autohtone sorte maslina Elafita. Alfa 2 d.o.o. Dubrovnik

- Bakarić P. (2005b). Main olive varieties in the area of Dubrovnik-Neretva county with special reference to autochthonous varieties of the Pelješac peninsula. *Pomologia Croatica* 11(1-2):15-21.
- Baldoni L., Cultrera N.G., Mariotti R., Riccioloni C. et al. (2009). A consensus list of microsatellites markers for olive genotyping. *Molecular Breeding*. 24:213–231.
- Bulić S. (1921). Građa za dalmatinsku elajografiju. Poljoprivredno odjeljenje Pokrajinske uprave za Dalmaciju. Šibenik.
- Carriero E., Fontanazza G., Cellini F., Giori G. (2002). Identification of simple sequence repeats (SSRs) in olive (*Olea europaea* L.). *Theoretical Applied Genetics* 104.301–307.
- Crnica K. (2011). Genetska identifikacija sorata masline SSR molekularnim markerima. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
- Hugues C. (1999). *Maslinarstvo Istre/Elaiografia Istriana*. Ceres, Zagreb. ISBN 953-6108-16-X
- UPOV (1985). Draft Guidelines for the Conduct of Tests for Distinctness, Homogeneity and Stability - Olive (vegetatively propagated fruit varieties)
- Kauf Z. (2008). Primjena morfoloških i molekularnih markera u opisu sorata maslina skradinskog zaleđa. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
- Kumar P., Gupta V.K., Misra A.K., Mod D.R., Pandey B.K. (2009). Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics*. 2:141–162.
- Marčić M. (1923). Uzgoj maslina na istočnim obalama Jadrana. Zadržni savez. Leonova tiskara. Split.
- Rafalski J.A., Morgante M., Powell W., Vogel J.M., Tingey S.V. (1996). Generating and using DNA markers in plants. In: Birren B, Lai E. (eds) *Analysis of Non-mammalian Genomes: A practical Guide*, press. Academic Press. Boca Raton, FL
- Štambuk S., Sutlović D., Bakarić P., Petričević S., Anđelinović Š. (2007). Potential Usefulness of Microsatellite-based Genotyping of Croatian Olive (*Olea europaea* L.) in Forensic Casework. *Forensic Botany*. 48:556-562.
- Taamalli W., Geuna F., Banfi R., Bassi D., Daoud D., Zarrouk M. (2006). Agronomic and molecular analyses for the characterisation of accessions in Tunisian olive germplasm collections. *Electronic Journal of Biotechnology*. 9:467-481 .
- Thiel T., Michalek W., Varshney R.K., Graner A. (2003). Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical Applied Genetics*. 106:411-422.
- Trujillo I., Ojeda M.A., Urdiroz N.M., Potter, D., Barranco D., Rallo L., Díez C.M. (2013). Identification of the Worldwide Olive Germplasm Bank of Córdoba (Spain) using SSR and morphological markers. *Tree Genetic Genomes*. 10:141–155.
- Wang Z.F., Dai S.P., Lian J.Y., Chen H.F., Ye W.H., Cao H.L. (2018). Allele size miscalling due to the pull-up effect influencing size standard calibration in capillary electrophoresis: A case study using HEX fluorescent dye in microsatellites. In *Genotyping*, Ibrokhim Y. Abdurakhmonov (ed.), 31-46. London, UK: Intechopen

## Morphological and molecular characterization of olive cultivar 'Krvavica' from Skradin area

### Abstract

The goal of the research is to provide the morphological characterization, and to determine genetic profile of the olive variety 'Krvavica' from Skradin, and compare the obtained SSR profile with publicly available profiles in order to confirm the uniqueness of the genotype of cv. 'Krvavica'. The description of cv. 'Krvavica' is provided on the basis of morphological traits of tree, leaf, flower, fruit, and stone. The genetic profile determined by the 11 consensual SSR markers, and the its comparison with the SSR profiles of previously described varieties, it is shown that cv. 'Krvavica' from the region of Skradin has unique genetic profile.

**Key words:** *Olea europaea* L., phenotype, DNA identification, SSR markers

## Time-resolved chlorophyll fluorescence measurements in maize reveal different patterns of responses to increasing temperatures among maturity groups

Vlatko Galić<sup>1</sup>, Tatjana Ledenčan<sup>1</sup>, Antun Jambrović<sup>1</sup>, Zvonimir Zdunić<sup>1</sup>, Ivana Podnar Žarko<sup>2</sup>, Domagoj Šimić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Agricultural Institute Osijek, Južno predgrađe 17, HR31000 Osijek, Croatia*  
(vlatko.galic@poljinis.hr)

<sup>2</sup> *Faculty of Electrical Engineering and Computing, University of Zagreb, Unska 3, HR10000 Zagreb, Croatia*

### Abstract

Early maturing maize hybrids are expected to enter the senescence and reach maturity more quickly, while in later maturity hybrids this process is stretched over a longer period of time. The aim of this study was to analyze the photosynthetic efficiency of maize hybrids belonging to different maturity groups in time-resolved manner. Chlorophyll fluorescence (ChlF) was continuously measured from 07:00 to 14:00 on 48 maize hybrids in two experiments. Our results indicate that early-maturing hybrids from groups FAO 300 and 400 display more sensitive reactions to high temperatures and lower yields compared to late maturing ones.

**Keywords:** maize, chlorophyll fluorescence, heat, maturity, adeptness

### Introduction

On-farm trend in Southeastern Europe show inclination towards earlier maturing maize hybrids. Reasons for such practice are manifold with efficient utilization of resources in terms of an earlier harvest and a decrease of drying costs. Early maturing hybrids flower earlier and are thus able to avoid the periods with high incidence of drought, at theoretical cost of entering senescence more quickly thus compressing the time-frame of productive photosynthetic activity. Earlier maturing hybrids also show genetic distinctness as hybrid formulas often include flint – dent combinations as compared to dent - dent in later maturity ones (Mikel, 2011). The ChlF is based on property of photosynthetic tissues to emit weak light called fluorescence upon illumination with strong light source after being adapted to dark. High-density measurement of ChlF reveals increase in fluorescence signal during the first one second, the phenomenon called Kautsky-effect. Kinetics of this fluorescence rise reveal unique pattern called OJIP allowing biophysical interpretation of electrochemical reactions in real time in so-called JIP-test framework (Strasser et al., 2004). JIP-test is sensitive to environmental deviations, especially abiotic stresses such as heat (Galic et al., 2019) and water deficit (Begović et al., 2020). The most used, highly sensitive parameter of JIP-test, PI<sub>ABS</sub> (i.e. performance index of photosystem II on absorption basis) quantifies primary photochemistry.

The aim of this study was to analyze the differences in ChlF reactions between hybrids from different maturity groups in time-resolved manner.

## Material and Methods

Experimental and commercial maize hybrids (48 in total) from different maturity groups were planted in three experiments, two in fields of Agricultural Institute Osijek (45°32'22.1''N 18°44'01.8''E and 45°32'17.3''N 18°44'27.6''E) with 2-week difference planting dates and single experiment in field of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek (45°30'48.3''N 18°47'15.8''E). Six hybrids belong to group FAO 300, 13 to FAO 400, 15 to FAO 500, nine to FAO 600 and five to FAO 700. ChlF was measured with handheld fluorometer (Handy-PEA, Hansatech, UK) on ear-leaves continuously during one month (25th of June to 25th of July), on every day with clear weather from 07:00 to 14:00 when the highest temperatures are expected. Five plants of every hybrid were measured at three growth stages: VT (last vegetative stage with visible tassel), anthesis (first reproductive stage with more than 50% of plants showing anthers) and early grain filling. Totally, more than 16000 measurements were carried out. Plots were manually harvested and weighted and the moisture was determined on a five-ear sample. Agrometeorological parameters were measured by Pinova weather station. Data was handled in Microsoft Excel.

## Results and Discussion

All measured agrometeorological parameters showed daytime-related trends. Relative humidity decreased from 07:00 to 14:00, while air and leaf temperatures increased (Figure 1).

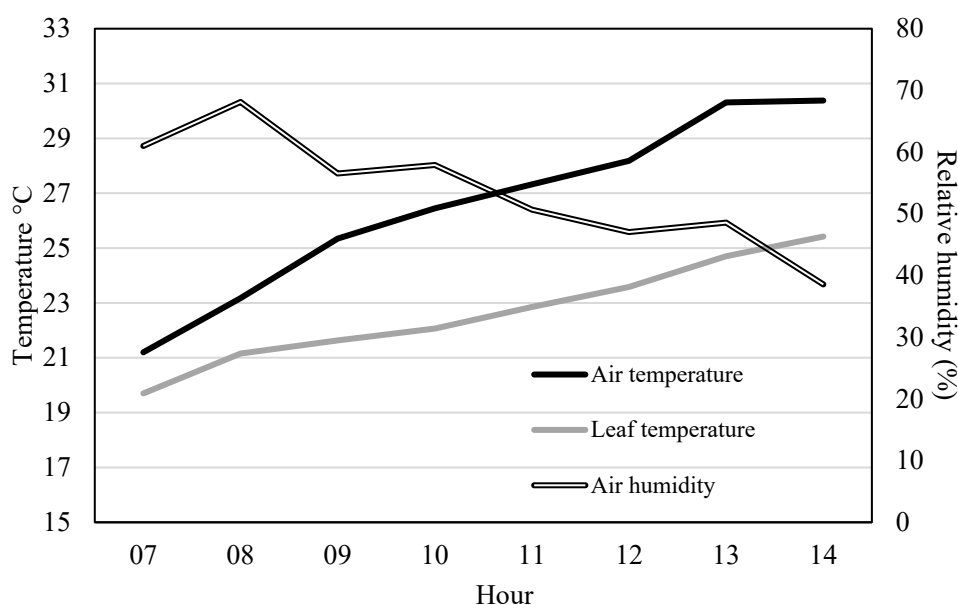


Figure 1. Aggregated means of agrometeorological parameters by hour during the days when ChlF measurements were carried out

Maturity related positive trend of increase in grain yield was followed by increase in grain moisture. Very strong coefficients of determination were calculated for relationship between grain yield (93.51%) and FAO maturity group, as well between grain moisture and FAO maturity group (91.63%, Figure 2). Such trend is expected in full-season maize hybrids grown in full-season environments (Bennetzen and Hake, 2009).

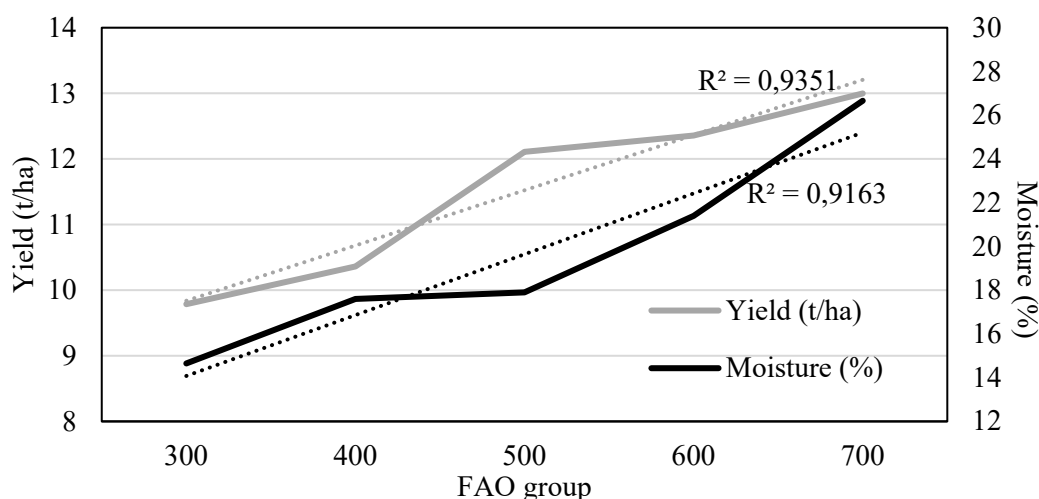


Figure 2. Grain yield and harvest moisture of maize hybrids from different FAO maturity groups

Different time-related trends were observed in  $PI_{ABS}$  between different maturity groups. Hybrids from FAO groups 300 and 400 showed similar patterns of reactions with lowest morning values and slight negative slope towards the afternoon ( $R^2 = 83.63\%$  and  $89.5\%$ ). Hybrids from FAO groups 500, 600 and 700 showed higher morning values and steeper slope towards the afternoon, except in highest yielding group FAO700, where slight increase was observed in hours with the highest temperatures (Figure 3). Heat sensitivity of ChlF is expected to be affected by maturity and to vary between different genotypes (Oukarroum, et al., 2016, Franić et al., 2019).

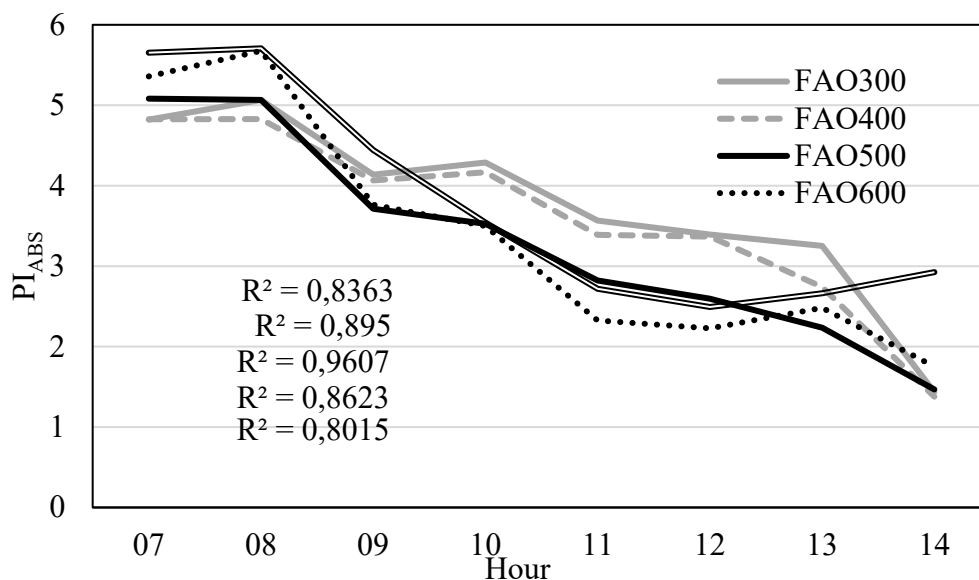


Figure 3. Means of performance index on absorption basis ( $PI_{ABS}$ ) by hour along with  $R^2$  values of simple linear models

## Conclusions

Hybrids from different maturity groups show distinct responses to daytime changes in environmental conditions. This is possibly influenced by different mechanisms of coping with increasing temperatures. Application of ChlF as a tool for constant monitoring of maize physiological status needs to be further investigated, but the results are promising especially

in context of newly developed remote sensing and inter-communicating devices. Constant monitoring of maize plant status could provide the farmers the means to perform ameliorative measures when needed, where needed and the underlying models need to be calibrated to best represent the field conditions and scenarios.

### Acknowledgments

This work is supported by the project "IoT-field: An Ecosystem of Networked Devices and Services for IoT Solutions Applied in Agriculture" co-financed by the European Union from the European Regional Development Fund within the Operational program Competitiveness and Cohesion 2014-2020 of the Republic of Croatia.

### References

- Begović L., Galić V., Abičić I., Lončarić Z., Lalić A., Mlinarić S. (2020). Implications of intra-seasonal climate variations on chlorophyll a fluorescence and biomass in winter barley breeding program, *Photosynthetica*, 58(4): 995- 1008.
- Bennetzen J.L., Hake S. (2009). *Handbook of Maize: Its Biology*, NYC, USA, Springer-Verlag. Available at: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-0-387-79418-1#about>
- Franić M., Jambrović A., Zdunić Z., Šimić D., Galić V. (2019). Photosynthetic properties of maize hybrids under different environmental conditions probed by the chlorophyll a fluorescence, *Maydica*, 64(3): M25, 9
- Galic V., Franic M., Jambrovic A., Ledencan T., Brkic A., Zdunic Z., Simic D. (2019). Genetic Correlations Between Photosynthetic and Yield Performance in Maize Are Different Under Two Heat Scenarios During Flowering, *Frontiers in Plant Science*, 10: 566.
- Mikel M. A. (2011). Genetic composition of contemporary U.S. commercial dent corn germplasm, *Crop Science*, 51(2): 592–599.
- Oukarroum A., El Madidi S., Strasser R.J. (2016). Differential heat sensitivity index in barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) monitored by chlorophyll a fluorescence OKJIP, *Plant Physiology and Biochemistry*, 105: 102–108.
- Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A. (2004). Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient, in *Chlorophyll a Fluorescence A Signature of Photosynthesis*, Papageorgiou, G.C. and Govindjee (eds), pages. 321–362, NYC, USA, Springer International Publishing.

## Mjerenje fluorescencije klorofila kroz vrijeme pokazuje različite uzorke reakcija na visoke temperature između skupina dozrijevanja

### Sažetak

Očekuje se da hibridi kukuruza ranih skupina dozrijevanja efikasnije akumuliraju toplinske jedinice i ulaze u senescenciju prije nego hibridi kasnijih skupina. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati promjene fotosintetske učinkovitosti hibrida kukuruza različitih skupina dozrijevanja kroz vrijeme. Fluorescencija klorofila (ChlF) mjerena je kontinuirano od 07:00 do 14 sati na 48 hibrida kukuruza u tri pokusa. Linearni model pokazao je visoku sličnost dviju metoda podjele vremena dozrijevanja. Rezultati istraživanja pokazali su da hibridi grupa FAO 300 i 400 imaju osjetljivije reakcije na visoke temperature, praćene nižim prinosima u odnosu na hibride kasnijih skupina.

**Ključne riječi:** kukuruz, fluorescencija, adaptacija, visoke temperature, skupine zrenja



## Kvaliteta sjemena engleskog ljulja (*Lolium perenne* L.) nakon 12 godina skladištenja na različitim temperaturama

Goran Herman, Vlado Guberac, Ranko Gantner, Meri Engler, Gordana Bukvić

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (ranko.gantner@fazos.hr)*

### Sažetak

Sjeme dva kultivara engleskog ljulja (Bartwingo i Calibra) skladišteno je 12 godina na temperaturama 10 °C i -20 °C. Metodom vlažnog filter papira utvrđena su svojstva: energija klijanja i klijavost sjemena, dužina korijena, stabljike i ukupna dužina klijanaca te električni konduktivitet sjemena. Utjecaj temperature dobiven je za sva ispitivana svojstva. Prosječne vrijednosti svih svojstava, osim električnog konduktiviteta, bile su veće na nižoj temperaturi skladištenja. Kultivar Bartwingo imao je veću prosječnu energiju klijanja sjemena, a Calibra duži korijen, stabljiku kao i ukupnu dužinu klijanaca. Kultivar Bartwingo imao je veći električni konduktivitet od Calibre.

**Ključne riječi:** engleski ljulj, sjeme, temperatura skladištenja, klijavost, električni konduktivitet

### Uvod

Engleski ljulj ubraja se u najvrjednije i najkvalitetnije pašnjačke trave. Na produkciju biomase, pored okolišnih uvjeta uzgoja, utječe i kvaliteta sjemena koje se koristi u sjetvi (Van Assche i Leuven, 1988.). Skladištenjem sjemena dulji vremenski period važno je očuvati genetski potencijal sjemena (Ellis i sur., 1991.). Nepovoljni uvjeti skladištenja mogu rezultirati niskom klijavošću i gubitkom životne sposobnosti sjemena (Nasreen i sur., 2000.). Sadržaj vlage, temperatura i razdoblje čuvanja sjemena glavni su čimbenici koji utječu na kvalitetu sjemena tijekom skladištenja (Elis i Roberts, 1981.). Za ispitivanje kvalitete odnosno životne sposobnosti sjemena koriste se različiti testovi među kojima su najčešći standardni test klijavosti i test električnog konduktiviteta (Wang i sur., 2004.). Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi kvalitetu sjemena dva kultivara engleskog ljulja, nakon 12 godina skladištenja na različitim temperaturama, standardnim testom određivanja klijavosti kao i testom električnog konduktiviteta.

### Materijal i metode

Ispitivanje svojstava sjemena dva kultivara engleskog ljulja, Bartwingo (B) i Calibra (C), nakon 12 godina skladištenja u hermetički zatvorenim posudama na temperaturama -20 °C i 10 °C provedeno je sukladno pravilima ISTA (2003.). Na navlaženi filter papir zasijano je po 100 sjemenki u četiri ponavljanja za svaki kultivar i temperaturu skladištenja. Prije skladištenja određena su svojstva sjemena i klijanaca ispitivanih kultivara (tablica 1 i 2). Električni konduktivitet sjemena (EC) mjereno je univerzalnim konduktometrom. Za svaki kultivar i temperaturu po 50 sjemenki potopljeno je u 100 ml deionizirane vode u dva ponavljanja te je očitavanje obavljeno nakon 1, 3, 6 i 24 h (Lv i sur., 2017.). Izračunata je prosječna vrijednost za dva ponavljanja, a rezultat EC sjemena je izražen kao  $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$  početne mase sjemena. Ispitivanjima je utvrđena energija klijanja sjemena (EKS), klijavost sjemena (KS), dužina korijena klijanaca (DKK), dužina stabljike klijanaca (DSK) kao i ukupna dužina klijanaca (UDK). Ispitivanje značajnosti utjecaja primjenjenih tretmana

provedeno je analizom varijance Fisherovim testom ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ) u programu IRRISTAT for Windows, Version 5.0 (IRRI, 1998.-2005.).

Tablica 1. Podrijetlo, masa 1000 sjemenki, vlaga sjemena i ploidnost kultivara

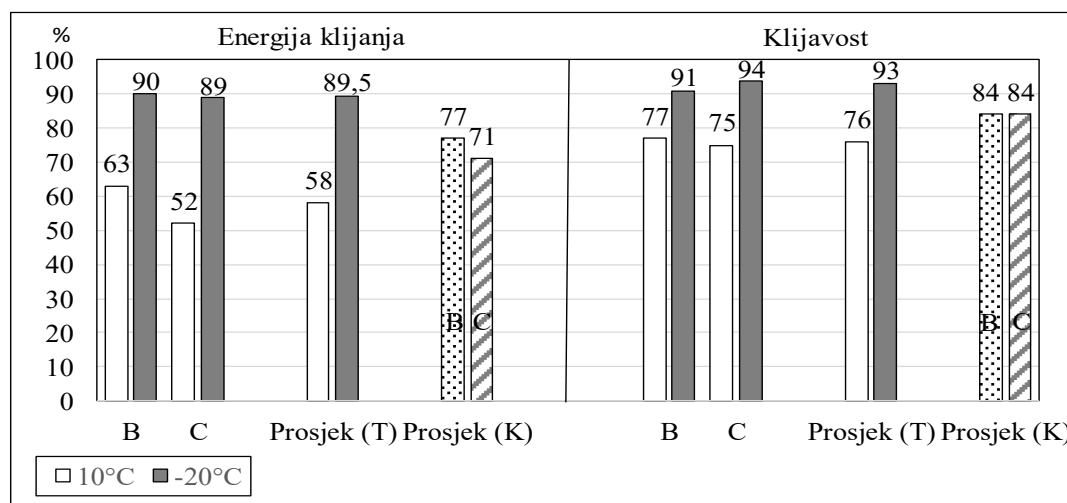
Kultivar	Podrijetlo	Masa 1000 sjemenki (g)	Vlaga sjemena (%)	Ploidnost
Bartwingo	Nizozemska	1,92	8,4	Diploid
Calibra	Danska	3,06	10,4	Tetraploid

Tablica 2. Svojstva sjemena i klijanaca prije tretmana skladištenja

Kultivar	EKS (%)	KS (%)	DKK (cm)	DSK (cm)	UDK (cm)
Bartwingo	85,8	85,8	5,28	8,11	13,39
Calibra	68,5	68,5	6,52	9,33	15,85

## Rezultati i rasprava

Statističkom obradom podataka ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$ ) utvrđene su značajne razlike između temperatura skladištenja i kultivara, kao i njihove interakcije za sva ispitivana svojstva sjemena i klijanaca engleskog ljulja, osim za klijavost sjemena između kultivara.



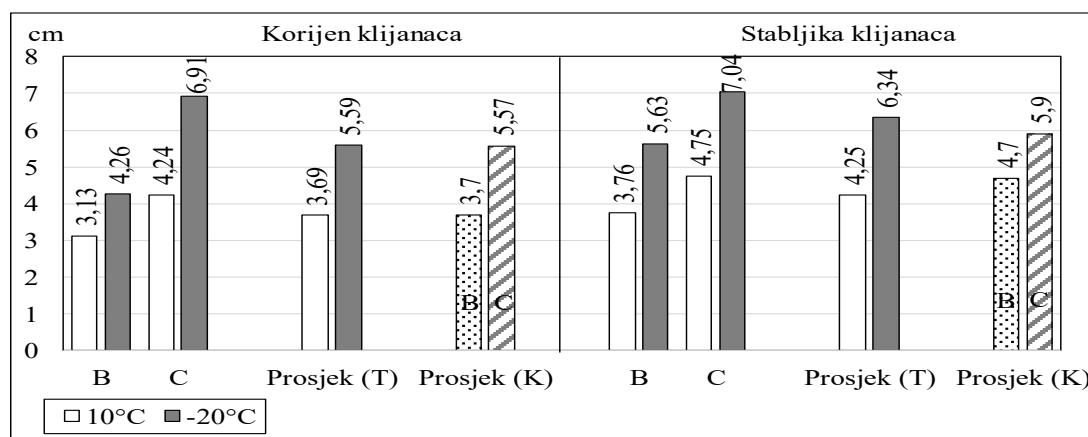
LSD	Energija klijanja			Klijavost		
	T**	K**	T x K**	T**	K	T x K**
0,05	1,027	2,044	2,237	0,795	ns	1,123
0,01	1,885	3,097	3,453	1,460	ns	1,790

T – temperatura; K – kultivar

Grafikon 1. Utjecaj različitih temperatura skladištenja na energiju klijanja i klijavost sjemena (%) kultivara engleskog ljulja nakon 12 godina

Kod ispitivanih kultivara engleskog ljulja utvrđena je veća prosječna vrijednost EKS pri nižoj temperaturi skladištenja sjemena (Grafikon 1). Za kultivar B utvrđene su veće prosječne vrijednosti EKS u odnosu na kultivar C. Na temperaturi -20 °C nije bilo značajnih razlika u vrijednostima EKS između kultivara, dok je razlika na 10 °C bila značajna. Sjeme engleskog ljulja imalo je veću vrijednost KS na temperaturi skladištenja -20 °C (Grafikon 1). Međutim, nisu utvrđene statistički značajne razlike između kultivara za svojstvo KS. Veće razlike između kultivara, s obzirom na KS, utvrđene su na -20 °C. Kultivar B imao je veću vrijednost KS na 10 °C, a manju na -20 °C u odnosu na kultivar C. Veća prosječna vrijednost DKK utvrđena je kod kultivara skladištenih na temperaturi -20 °C (Grafikon 2).

Kultivar C imao je veću prosječnu vrijednost DKK od kultivara B. Utvrđena je i statistički značajna interakcija temperature i kultivara. Veća razlika u vrijednosti DKK između kultivara utvrđena je na temperaturi skladištenja od  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



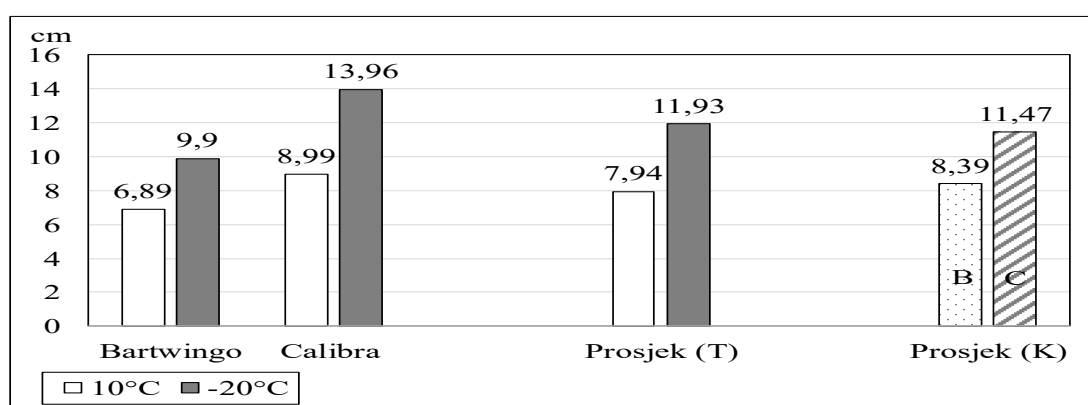
LSD	Korijen klijanaca			Stabljika klijanaca		
	T**	K**	T x K**	T**	K**	T x K**
0,05	0,034	0,082	0,088	0,038	0,060	0,069
0,01	0,062	0,125	0,134	0,069	0,092	0,107

T – temperatura; K – kultivar

Grafikon 2. Utjecaj različitih temperatura skladištenja na dužinu korijena i stabljike klijanaca (cm) kultivara engleskog ljujla nakon 12 godina

Značajno veća prosječna vrijednost DSK kultivara engleskog ljujla utvrđena je na temperaturi skladištenja  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Grafikon 2.). Kultivar C imao je veće vrijednosti DSK, pri obje temperature, u odnosu na kultivar B. Veća razlika između kultivara, s obzirom na vrijednosti DSK, utvrđena je na temperaturi skladištenja od  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Prosječna vrijednost UDK kultivara engleskog ljujla bila je veća na nižoj temperaturi skladištenja, a kultivar C imao je veće prosječne vrijednosti UDK od kultivara B (Grafikon 3). Pri temperaturi od  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  utvrđene su najveće razlike u vrijednosti UDK između kultivara.

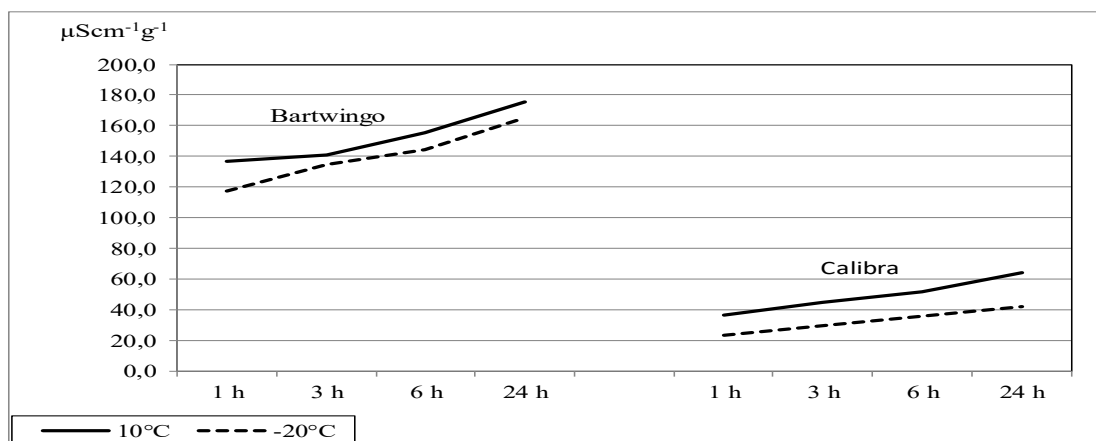


LSD	T**	K**	T x K**
0,05	0,044	0,101	0,109
0,01	0,081	0,154	0,167

T – temperatura; K – kultivar

Grafikon 3. Utjecaj različitih temperatura na ukupnu dužinu klijanaca (cm) kultivara engleskog ljujla nakon 12 godina skladištenja

Vrijednosti EC sjemena kod oba kultivara bile su veće na 10 °C nego na -20 °C (Grafikon 4). Kultivar B imao je puno veće vrijednosti EC nego kultivar C.



Grafikon 4. Utjecaj različitih temperatura skladištenja na električni konduktivitet sjemena ( $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) kultivara engleskog ljulja nakon 12 godina

U odnosu na EKS određenu prije skladištenja, nakon 12 godina kod oba kultivara utvrđene su niže vrijednosti EKS na temperaturi 10 °C te povećane vrijednosti EKS na -20 °C. Skladištenjem na temperaturi 10 °C vrijednost KS se kod kultivara B smanjila, a kod kultivara C povećala. Na temperaturi skladištenja -20 °C, kod oba kultivara, vrijednosti EKS su bile veće nego prije skladištenja. Iako skladištenjem sjemena tijekom dužeg vremenskog razdoblja opada životna sposobnost sjemena (Bukvić i sur., 2015.), povećanje klijavosti oba ispitivana klutivara u skladu je s istraživanjima Ackigoza i Knowles (1983.), koji su tijekom 20 godina skladištenja sjemena tri vrste trava na temperaturama -7 °C i -18 °C dobili povećanje ili neznatno smanjenje klijavosti. Također, Bean i sur. (1984.) dobili su veću KS engleskog ljulja nakon 3-5 godina skladištenja na temperaturama -25 °C i 0 °C u odnosu na 18°C. U prilog očuvane životne sposobnosti skladištenih kultivara osim klijavosti idu i dobivene vrijednosti EC. Vieira i sur. (2004.) navode da EC u rasponu 60-70  $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$  označava sjeme visokog vigora, a kod vrijednosti iznad 150  $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$  sjeme nije pogodno za sjetvu. Oba kultivara su na temperaturi skladištenja -20 °C imala manje vrijednosti EC nego na 10 °C. Međutim, vrijednosti za kultivar B na 10 °C uglavnom prelaze 150  $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ . Korijen klijanaca kultivara engleskog ljulja nakon skladištenja na 10 °C je bio kraći. Nakon skladištenja na nižoj temperaturi kod kultivara B dobivena je niža vrijednost, a kod C nešto viša u odnosu na vrijednosti utvrđene prije skladištenja. Dobivene vrijednosti za DSK kao i UDK kod ispitivanih kultivara engleskog ljulja su na obje temperature bile manje nego prije skladištenja. Veće smanjenje DSK i UDK utvrđeno je na temperaturi skladištenja 10 °C nego na -20 °C. Rezultati istraživanih svojstava sjemena kultivara engleskog ljulja pokazala su da niti nakon 12 godina sjeme nije izgubilo životnu sposobnost što je u skladu s navodima Ellis i Hong (2006.).

## Zaključak

Niža temperatura skladištenja u većoj mjeri je pozitivno utjecala na vigor sjemena budući da su sva ispitivana svojstva imala veće prosječne vrijednosti na -20 °C. Kultivar Bartwingo imao je veću prosječnu EKS, a Calibra DKK, DSK i UDK te manji EC. Razlike između kultivara nisu utvrđene za svojstvo KS. Iako je skladišteno sjeme kultivara imalo visoke vrijednosti KS i niske (Calibra) ili zadovoljavajuće (Bartwingo) vrijednosti EC, svojstva klijanaca ipak su bila značajno niža u odnosu na vrijednosti prije 12 godina.

## Literatura

- Ackigoz E., Knowles R.P. (1983). Long-term storage of grass seeds. *Canadian Journal of Plant Science*, 63(3): 669-674.
- Bean E.W., Sengul S., Tyler B.F. (1984). The germination of grass seeds after storage at different temperatures in aluminium foil and manilla paper packets. *Annals of Applied Biology*, 105(2): 399-403.
- Bukvić G., Gantner R., Grljušić S., Popović B., Agić D., Stanisavljević A. (2015). Effects of storage period and temperature upon seed and seedling traits of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Poljoprivreda*, 21(2): 3-9.
- Ellis R.H., Hong T.D., E.H. Roberts (1991). Seed moisture content, storage, viability and vigour. *Seed Science Research*, 1: 275–277.
- Ellis R.H., Roberts E.H. (1981). The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9: 373–409.
- Ellis R.H., Hong T.D. (2006). Temperature sensitivity of the low-moisture-content limit to negative seed longevity–moisture content relationships in hermetic storage. *Annals of botany*, 97(5): 785-791.
- IRRI: 1998-2005. IRRISTAT for Windows, version 5.0.
- ISTA (2003). Handbook on seedling evaluation, 3rd edition.
- Lv Y. Y., He X. Q., Hu X. W., Wang Y. R. (2017). The Seed Semipermeable Layer and Its Relation to Seed Quality Assessment in Four Grass Species. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1175.
- Nasreen S., Khan B.R., Mohmad A.S. (2000). The effect of storage temperature, storage period and seed moisture content on seed viability of soya bean. *Pakistan Journal of Biological Science*, vol. 3, no. 12, pp. 2003–2004.
- Van Assche C., Leuven K.U. (1988). The importance of seed control and seed treatment for a guaranteed plant production. *Acta Horticulturae*, 220: 391-396.
- Vieira R.D., Scappa Neto, A., Bittencourt S.R.M.D., Panobianc, M. (2004). Electrical conductivity of the seed soaking solution and soybean seedling emergence. *Scientia Agricola*, 61(2): 164-168.
- Wang Y.R., YuL., Nan Z.B., Liu Y.L. (2004). Vigor tests used to rank seed lot quality and predict field emergence in four forage species. *Crop science*, 44(2): 535-541.

## Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) seed quality after 12 years of storage at different temperatures

### Abstract

Seeds of two perennial ryegrass cultivars (Bartwingo and Calibra) were stored for 12 years at temperatures 10 °C and -20 °C. The following seed traits were examined by wet filter paper method: germination energy and germination, root, shoot and whole plantlet length, and seed's electric conductivity. Influence of storage temperature was observed for all investigated traits. Higher average trait values were associated with lower storage temperature, except for electric conductivity. Bartwingo cultivar had greater average germination energy and seed electric conductivity, while Calibra had greater average root, shoot and total plantlet length.

**Key words:** perennial ryegrass, seed, storage temperature, germination, electric conductivity

## Prinos i kakvoća sjemena soje na lokaciji Osijek

Goran Jukić<sup>1</sup>, Krešimir Šunjić<sup>1</sup>, Ivan Varnica<sup>1</sup>, Željka Cegur<sup>2</sup>, Ivica Delić<sup>2</sup>, Ivica Beraković<sup>3</sup>

<sup>1</sup>HAPIH - Centar za sjemenarstvo i rasadničarstvo, Usorska 19, Brijest, Hrvatska  
(goran.jukic@hapih.hr)

<sup>2</sup>Ministarstvo poljoprivrede, Vukovarska 269, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, Osijek, Hrvatska

### Sažetak

Tijekom 2020. godine proveden je poljski pokus na lokaciji Osijek. Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj sorte na prinos, udio ulja te udio bjelančevina u sjemenu soje. U pokus su uvrštene dvadeset dvije domaće i strane sorte koje su proizvedene i certificirane u Republici Hrvatskoj, a koje su najzastupljenije u strukturi sjetve u Republici Hrvatskoj. Pokus je postavljen u HAPIH - Centru za sjemenarstvo i rasadničarstvo u Osijeku (N 45°31', E 18°40') u dva ponavljanja po slučajnom blok-rasporedu. Analizom varijance utvrđen je statistički značajan utjecaj sorte na prinos zrna, udio ulja i udio bjelančevina u sjemenu soje ( $p < 0,01$ ). Dobiveni rezultati ispitivanja doprinjet će izboru sortimenta ovisno o karakteristikama sorti za lokaciju Osijek.

**Ključne riječi:** sorta, prinos, udio ulja, udio bjelančevina

### Uvod

Soja je najznačajnija bjelančevinasto - uljna kultura u svijetu koja se proizvodi u više od pedeset zemalja. Značaj soje temelji se na kakvoći njenog zrna, koje sadrži oko 38% bjelančevina i oko 18% ulja (Karr-Lilienthal i sur., 2005.). Prema podacima FAO soja se u svijetu uzgaja na 124,92 mil. ha sa prosječnim prinosom od 2,79 t/ha. U Republici Hrvatskoj soja se 2014. godine uzgajala na 47.104 ha, te je imala prosječni prinos 2,79 t ha<sup>-1</sup>. U 2018. godini soja se kod nas proizvodila na 77.087 ha, te je imala prosječni prinos 3,18 t ha<sup>-1</sup> što ukazuje na značajno povećanje površina i prinosa (FAOSTAT 2020.). Poljoprivredni proizvođači sukladno Pravilniku o provedbi izravne potpore poljoprivredi i IAKS mjera ruralnog razvoja (NN 19/2018.) ostvaruju potpore sjetvom certificiranog sjemena GMO – free soje. Do porasta proizvodnje dolazi upravo zbog toga što je domaća proizvodnja sjemena soje GMO – free, te zbog toga što je Republika Hrvatska potpisnik međunarodnog projekta Deklaracije Dunav soja. Proizvodnjom GMO - free soje poljoprivrednim proizvođačima osiguran je siguran plasman i stabilna otkupna cijena na europskom tržištu. Soja se u EU uglavnom koristi kao stočna hrana te je stoga prioritet proizvođača postizanje visokih uroda. Međutim zbog sve veće upotrebe soje u prehrani ljudi, za očekivati je i povećanu potražnju za sortama koje imaju veći udio ulja ili bjelančevina. Mnogi znanstvenici zaključuju kako sorta utječe na prinos i kakvoću sjemena (Jukić i sur., 2006., Sudarić i sur., 2006a., Popović i sur., 2012., Jukić i sur., 2019.).

Cilj istraživanja bio je utvrditi koja od sorata koje su najzastupljenije u proizvodnji u Republici Hrvatskoj najbolje odgovaraju poljoprivrednom proizvođaču ovisno o namjeni proizvodnje na lokaciji Osijek.

## Materijal i metode

Poljska i laboratorijska istraživanja provedena su tijekom 2020. godine u HAPIH- Centru za sjemenarstvo i rasadničarstvo u Osijeku (N 45°31', E 18°40'). U pokus su uvrštene 22 sorte od kojih 12 domaćih i 10 stranih koje su najzastupljenije u proizvodnji u Republici Hrvatskoj. U pokusu su bile zastupljene sorte različitih grupa zriobe (00, 0, I i II). Pokus je postavljen u dva ponavljanja po slučajnom blok-rasporedu. Pokus je posijan 17. travnja 2020. godine Winterstaiger sijačicom na dubinu od 4 cm i međuredni razmak od 25 cm. Površina svake parcele iznosila je 10 m<sup>2</sup> (1,25 m x 8 m) na sklop prema preporuci oplemenjivača. Zaštita protiv korova provedena je herbicidima aktivne tvari metribuzin (0,49 kg ha<sup>-1</sup>) + metolaklor (0,96 l ha<sup>-1</sup>).

Količina oborina i temperatura zraka u godini ispitivanja prikazane su u Tablici 1. Količine oborina u vegetacijskom periodu bila je niža za 154,6 mm, u odnosu na višegodišnji prosjek. Manjak oborina bio je značajno manji od sjetve do cvatnje (travnj – kolovoz) što je imalo za posljedicu manji prinos zrna ispitivanog sortimenta. Prosječna temperatura zraka u 2020. godini bila je viša za 0,63 °C u odnosu na višegodišnji prosjek.

Zbog sorti različitih grupa zriobe žetva je obavljena u tri navrata tijekom listopada Winterstaiger kombajnom. Nakon žetve uzorci su u laboratoriju HAPIH - Centra za sjemenarstvo i rasadničarstvo vagani na stacioniranoj vagi. Udio ulja i bjelančevina u sjemenu soje rađen je pomoću NIR uređaja FOS Infratec 1241. Dobiveni podatci su sistematizirani prema sortama, a analiza varijance je izvršena statističkim programom XLSTAT (2020.5.1). Srednje vrijednosti ispitivanih varijabli uspoređene su LSD testom.

Tablica 1. Količine oborina i temperatura zraka u godini istraživanja (2020.) te višegodišnji prosjek (godine 1980. – 2000.) na lokaciji Osijek

Mjesec	Višegodišnji prosjek <sup>1</sup>		2020. godina	
	Oborine (mm)	Temperatura (°C)	Oborine (mm)	Temperatura (°C)
IV	59,6	11,6	20,4	12,3
V	56,2	17,1	42,6	15,3
VI	84,8	20,4	48,0	20,2
VII	68,5	21,9	47,2	22,2
VIII	74,9	21,5	71,0	23,6
IX	73,3	16,4	20,0	19,0
X	56,9	11,9	70,4	12,6
<b>Suma / prosjek</b>	<b>474,2</b>	<b>17,25</b>	<b>319,6</b>	<b>17,88</b>

<sup>1</sup>Višegodišnji prosjek lokacije u periodu 1980.-2000.

## Rezultati i rasprava

Analizom varijance utvrđen je statistički značajan ( $p < 0,01$ ) utjecaj sorte na prinos zrna (t ha<sup>-1</sup>), udio ulja (%) i udio bjelančevina (%) u zrnju soje (Tablica 2). Razlike između sorti tijekom ispitivanja analizirane su LSD testom.

Tablica 2. Rezultati analize varijance prikazane sredine kvadrata

Izvor varijabilnosti	Stupnjevi slobode	Prinos (t ha <sup>-1</sup> )	Udio ulja (%)	Udio bjelančevina (%)
Sorta	21	0,77**	0,63**	1,80**
Ostatak	21	0,05	0,03	0,09

Prosječne vrijednosti prinosa zrna ( $t\ ha^{-1}$ ), udjela ulja (%) i bjelančevina (%) za ispitivane sorte prikazane su u Tablici 3. Prosječno najmanji prinos imala je sorta Buga  $1,59\ t\ ha^{-1}$ , a prosječno najveći prinos ostvarila je sorta Zlata  $3,58\ t\ ha^{-1}$ . Između sorti Zlata, Seka, Sunce, Pedro, OS Zora, Sonja, ES Pallador i Ika nisu utvrđene statistički značajne razlike u visini prinosa. Usporedbom domaćeg i stranog sortimenta za svojstvo prinosa utvrđen je prosječno veći prinos domaćeg za  $0,55\ t\ ha^{-1}$ . Prema grupama zriobe najveći prosječni prinos ostvarila je grupa 0 ( $2,67\ t\ ha^{-1}$ ), a najmanji grupa II ( $2,0\ t\ ha^{-1}$ ).

Prosječno najmanji udio bjelančevina (%) imala je sorta Ika  $40,80\ %$ , a prosječno najveći udio bjelančevina (%) ostvarila je sorta AFZG Ana  $43,90\ %$ . Između sorti AFZG Ana, Toma, Zlata, Buka, Sunce, Angelica i Ema nisu utvrđene statistički značajne razlike. U domaćem sortimentu utvrđen je  $0,12\ %$  viši udio bjelančevina u odnosu na sorte stranog porijekla. Prema grupama zriobe najveći prosječni udio bjelančevina (%) ostvarila je grupa II ( $43,90\ %$ ), a najmanji grupa I ( $41,90\ %$ ).

Prosječno najmanji udio ulja (%) imala je sorta Toma  $20,35\ %$ , a prosječno najveći udio ulja (%) ostvarila je sorta Gabriela  $22,60\ %$ . Između sorti Gabriela, DH 5170, Pedro i Avril nisu utvrđene statistički značajne razlike. Usporedbom domaćeg i stranog sortimenta za svojstvo udjela ulja utvrđen je prosječno veći udio kod stranog sortimenta i to za  $0,28\ %$ . Prema grupama zriobe najveći prosječni udio ulja (%) ostvarila je grupa 00 ( $21,74\ %$ ), a najmanji grupa II ( $21,10\ %$ ).

Tablica 3. Prosječni prinos ( $t\ ha^{-1}$ ), udio ulja (%) i bjelančevina (%)

Sorta	Porijeklo sorti <sup>1</sup>	Grupa zriobe	Prosječni prinos ( $kg\ ha^{-1}$ )	Prosječni udio ulja (%)	Prosječni udio bjelančevina (%)
AFZG Ana	D	II	2,00	21,10	43,90
Angelica	S	00	2,16	21,70	43,40
Ascasubi	S	I	1,90	20,85	42,85
Avril	S	I	2,24	22,30	40,95
Bahia	S	I	1,74	21,90	42,20
Buga	S	0	1,53	21,00	43,50
DH 4173	S	0	2,48	21,60	42,55
DH 5170	S	I	2,04	22,55	42,45
Ema	D	00	2,25	21,00	43,25
ES Pallador	S	I	3,15	21,80	41,90
Gabriela	D	00	2,22	22,60	42,00
Gala PZO	S	I	2,90	21,95	41,70
Ika	D	I	3,08	21,70	40,80
Korana	D	00	2,84	21,65	41,55
OS Zora	D	I	3,27	21,50	41,95
Pedro	S	I	3,32	22,45	41,80
Sara	D	I	2,86	21,65	42,10
Seka	D	I	3,50	21,55	41,35
Sonja	D	0	3,16	21,65	41,60
Sunce	D	I	3,40	21,50	43,50
Toma	D	0	2,62	20,35	43,85
Zlata	D	0	3,58	22,05	43,60
<b>Prosjek</b>			<b>2,65</b>	<b>21,65</b>	<b>42,40</b>
LSD ( $p<0.05$ )			0,46	0,38	0,64
LSD ( $p<0.01$ )			0,63	0,52	0,88

<sup>1</sup> d-domaći sortiment, s- strani sortiment



Proučavajući 20 genotipova soje Jukić i sur. (2019.) utvrdili su značajan utjecaj genotipa te interakcije genotipa i godine na prinos, udio ulja i bjelančevina. Assefa i sur. (2018.) navode kako prinos soje pokazuje značajnu povezanost s okolinom i grupom zriobe. Sudarić i sur. (2006.b) navode kako je prinos i udio bjelančevina pod većim utjecajem klimatskih promjena nego udio ulja. Zhao i sur. (2020.) navode kako su glavni čimbenici koji ograničavaju prinos soje povezani s okolišem, genetikom, agrotehnikom i njihovim interakcijama. Isti autori navode kako klimatski uvjeti imaju veliki učinak na prinos soje. Ali i sur. (2013.) navode kako je odabir prikladne sorte za agroklimatsku zonu najvažnija briga za proizvođače soje.

### Zaključak

Na temelju provedenog istraživanja utjecaja sorte na prinos zrna ( $t\ ha^{-1}$ ), udio ulja (%) i bjelančevina (%) tijekom 2020. godine na lokaciji Osijek možemo zaključiti sljedeće: Utvrđen je statistički značajan ( $p < 0,01$ ) utjecaja sorte na prinos zrna ( $t\ ha^{-1}$ ), udio ulja (%) te udio bjelančevina (%) u zrnu soje; prema grupama zriobe prosječno veći prinos zrna ( $t\ ha^{-1}$ ) ostvarila je grupa 0, prosječno veći udio bjelančevina (%) imala je grupa II i prosječno veći udio ulja (%) ostvarila je grupa 00; usporedbom domaćeg i stranog sortimenta prema svojstvu prinosa utvrđen je prosječno veći prinos domaćeg sortimenta dok u svojstvima kvalitete sortiment je podjednake kvalitete.

### Literatura

- Assefa Y., Bajjalieh N., Archontoulis S., Casteel S., Davidson D., Kovacs P., Naeve Ingacio S., Ciampitti A. (2018). Spatial characterization of soybean yield and quality (amino acids, oil and protein) for United States, *Scientific Reports*, 8, 14653.
- Ali A., Iqbal Z., Ehsan M., Ashraf M., Asif M., Mubeen M, Rasool I., Rehman A. (2013). Comparison of yield performance of soybean varieties under semi-arid conditions, *Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(3): 828-832.
- Jukić G., Varnica I., Šunjić K., Delić I., Cegur Ž. (2019). Kakvoća najzastupljenijih sorti soje u Republici Hrvatskoj, 54. Hrvatski i 14. međunarodni znanstveni simpozij agronoma, *Zbornik sažetaka, Vodice*, 77-78.
- Jukić G., Varnica I., Dugalić K., Rukavina I., Guberac V., Delić I. (2019). Utjecaj genotipa, godine i lokacije na prinos, udio ulja i proteina u soji, *Poljoprivreda*, 25 (2): 3-10.
- Karr-Lilienthal L.K., Kadzere C.T, Grieshop C.M., Fahey G.C. Jr. (2005). Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: A review. *Livestock Production Science*, 97: 1–12.
- Popović V., Vidić M., Tatić M., Jakšić S., Kostić M. (2012): Uticaj sorte i godine na prinos i komponente kvaliteta soje, *Ratar. Povrt.*, 49: 132-139.
- Sudarić A., Vratarić M., Rajcan I. (2006a): Procjena vrijednosti kultivara soje ispitivanjem u mega okolinama, 41. Hrvatski i 1. međunarodni znanstveni simpozij agronoma, *Opatija*, 223-224.
- Sudarić A., Šimić, D., Vratarić, S. (2006b). Characterization of genotype by environment interactions in soybean breeding programmes of southeast Europe, *Plant Breeding*, 125: 191-194.
- Zhao S., Xu X., Wei D., Lin X., Qiu S., Chiampitti I., He P. (2020). Soybean yield, nutrient uptake and stoichiometry under different climate regions of northeast China, *Scientific Reports* 10 (1): 1-9.
- FAOSTAT (2020). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Pravilnik o provedbi izravne potpore poljoprivredi i IAKS mjera ruralnog razvoja za 2018. godinu (NN 19/2018).

## **Soybean yield and quality at location Osijek**

### **Abstract**

During the year 2020 field studies was carried out at the Osijek location on the impact of varieties on yield, oil and protein content of soybean seed. Twenty-two different varieties of domestic and foreign selections produced and certified in the Republic of Croatia, which are the most represented in the sowing structure, were included in the experiment. The experiment was set up at the CAAF - Center for Seed and Seedlings in Osijek (N 45°31', E 18°40') in two replications according to a randomized block design. According to the obtained results of the variance analysis for varieties, statistically highly justified differences ( $P < 0.01$ ) were obtained for grain yield, oil and protein content. The obtained research results will contribute to the selection of the best assortments depending of the characteristics of the varieties for the location of Osijek.

**Key words:** variety, yield, oil and protein content

## Varijabilnost sadržaja proteina u soku pšenične trave

Tihana Lovrić, Sanja Grubišić, Sonja Petrović, Sunčica Guberac, Vedran Orkić, Andrijana Rebekić

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (sanja.grubisic@fazos.hr)*

### Sažetak

Pšenična trava je visokonutritivni prirodan dodatak prehrani koji se može konzumirati u obliku svježeg soka, praha ili tableta. Zbog raznolikog i bogatog kemijskog sastava pšeničnu travu se preporuča koristiti za očuvanje zdravlja, te kao dodatak prehrani s ciljem prevencije razvoja raznih bolesti. Cilj istraživanja bio je utvrditi koncentraciju proteina u svježem soku pšenične trave kod 14 hrvatskih sorata i 5 divljih srodnika pšenice. Između hrvatskih sorata i divljih srodnika pšenice utvrđena je statistički značajna razlika u koncentraciji proteina ( $F=14,089$ ;  $p<0,001$ ). Prosječna koncentracija proteina u soku hrvatskih sorata iznosila je  $38,92 \pm 2,26 \text{ mg ml}^{-1}$ , dok je kod divljih srodnika iznosila  $23,76 \pm 2,29 \text{ mg ml}^{-1}$ .

**Ključne riječi:** pšenična trava, kultivari, proteini, funkcionalna hrana

### Uvod

Jedan dio svijeta u velikom je siromaštvu gdje ljudi umiru od gladi i posljedica pothranjenosti, dok se ostatak svijeta bori sa bolestima koje uzrokuje pretilost. Zdrastveni sustav razvijenih zemalja preopterećen je s liječenjem posljedica debljine te se zbog toga radi edukacija ljudi o važnosti zdrave i balansirane prehrane od najranije dobi. U tom procesu važno mjesto zauzima i funkcionalna hrana. Funkcionalna hrana je hrana koja pored svoje osnovne nutritivne vrijednosti na pozitivan i zadovoljavajući način utječe na jedan ili više ciljanih funkcija tijela smanjujući rizike razvoja pojedinih bolesti (Roberfroid, 2000.). U funkcionalnu hranu zbog svog bogatog i raznolikog kemijskog sastava svrstava se i pšenična trava. Pšenična trava predstavlja mlade izdanke pšenice (*Triticum aestivum* L.), a može se konzumirati u obliku svježeg soka, praha ili tableta. Visok sadržaj klorofila, bogat mineralni sastav, visok sadržaj vitamina A, C, E i B kompleksa i enzima govori o nutritivnoj vrijednosti pšenične trave (Padalia i sur., 2010.). Upravo zbog visokog sadržaja navedenih fitonutrijenata u mnogim medicinskim istraživanjima utvrđeno je da pšenična trava pozitivno djeluje na zdravlje ljudi. Primjerice, kod pacijenata oboljelih od ulceroznog kolitisa primjena soka od pšenične trave utjecala je na smanjenje indeksa aktivnosti bolesti (Ben-Arye i sur., 2002.). Utvrđeno je da je pacijenticama oboljelim od karcinoma dojke sok pšenične trave pomogao u smanjenju neželjenih nuspojava kemoterapije (Bar-Sela i sur., 2007.). Pri liječenju anemije, zbog visokog sadržaja klorofila, utvrđeno je da je konzumacija 30 ml soka pšenične trave dnevno utjecala na porast sadržaja hemoglobina u krvi kod žena oboljelih od anemije (Mathur i sur., 2017.).

Važnost sadržaja proteina u zrnu pšenice očituje se u činjenici da su uz ugljikohidrate glavni spojevi koji utječu na masu zrna pšenice (Fatiukha i sur., 2019.). U prehrani ljudi preko 20 % unosa proteina čine upravo proteini iz biljaka iz roda *Triticum* spp. (Braun i sur., 2010.), u okrviru kojega pšenica (meka pšenica–*Triticum aestivum* L., tvrda pšenica–*Triticum turgidum* L. *ssp. durum*) ima najveće gospodarsko značenje. Sadržaj proteina u zrnu je jako važan jer se smatra najvažnijim parametrom kod određivanja kvalitete kruha. Naime, sadržaj proteina određuje hranjivu vrijednost i karakteristike tehnologije izrade tjestenine od brašna

(Nigro i sur., 2019.). Postoji nekoliko klasifikacija proteina, no najraširenija je Osborn klasifikacija prema kojoj se na temelju topljivosti, proteini pšenice dijele u albumine i globuline (topljivi u vodi i otopinama soli), glijadine (topljivi u 70 do 90 % etanolu) i glutenine (topljive u razrijeđenim kiselinama i lužinama). Osim ove, postoji i klasifikacija prema kojoj se proteini dijele u tri kategorije, a to su skladišni ili rezervni proteini, strukturni i metabolički proteine te zaštitni proteini (Shewry i Halford, 2002.). Prinos zrna i sadržaj proteina u zrnu složena su svojstva određena velikim brojem kvantitativnih gena koji djeluju međusobno i u interakciji s okolinom (Nigro i sur., 2019.). S obzirom da je sadržaj proteina u negativnoj korelaciji sa prinom (Oury i sur., 2003.), noviji genotipovi pšenice imaju manji sadržaj proteina, ali imaju veći prinos, u odnosu na starije genotipove. Ekološki čimbenici (biotički i abiotički) te njihova interakcija sa genotipovima pokazali su značajan utjecaj na ukupnu količinu i sadržaj proteina u zrnu (Triboi i sur., 2003.). Prema našim saznanjima sadržaj proteina u soku pšenične trave nije istraživao. S obzirom da se genotipovi pšenice razlikuju s obzirom na sadržaj proteina u zrnu, te da su proteini važna komponenta u prehrani ljudi, cilj ovog istraživanja bio je ispitati sadržaj proteina u soku pšenične trave različitih genotipova pšenice.

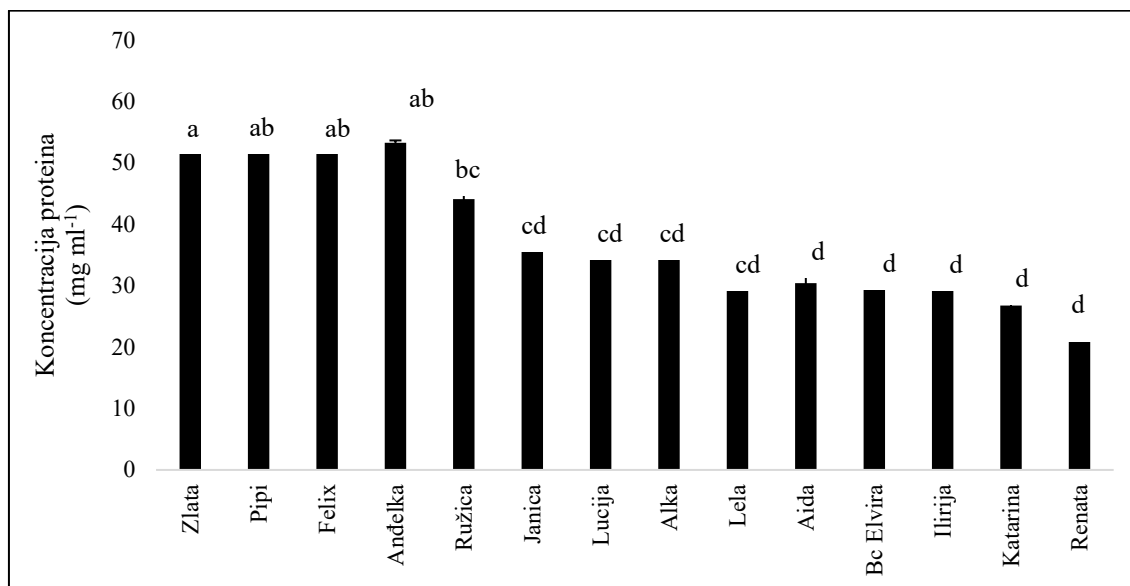
### Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na ukupno 19 genotipova pšenice iz gen kolekcije Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Od izabranih genotipova, 14 su hrvatske sorte koje su priznate nakon 2000. godine te pet divljih srodnika. Tijekom poljskog pokusa, kada su biljke bile pred vlatanje uzeti su uzorci listova pšenice te su spremljeni na čuvanje u ultra hladni zamrzivač na  $-80^{\circ}\text{C}$ . Sadržaj proteina u uzorcima soka pšenične trave određen je pomoću Bradford metode (1976.). Sok pšenične trave napravljen je pomoću ručnog sokovnika za pšeničnu travu BL-30. Kao standard korišten je goveđi serumski albumin (BSA;  $\gamma=1\text{ mg ml}^{-1}$ ) pomoću kojega se pripremio niz standarda proteina poznate koncentracije ( $20\text{--}100\text{ mg ml}^{-1}$ ). Kao pufer za analizu korišten je  $0,05\text{ M}$  Tris. Na dan analize pipetirano je  $1\text{ ml}$  uzorka i  $1\text{ ml}$  pufera te su centrifugirani na  $4^{\circ}\text{C}$  u trajanju od  $20\text{ min}$  na  $15\ 000\text{ okretaja min}^{-1}$ . Nakon centrifuge pipetirano je  $2,5\ \mu\text{l}$  uzorka i destilirane vode do volumena od  $2\text{ ml}$ . U tako pripremljene uzorke i seriju standarda dodano je  $1\text{ ml}$  Bradford reagensa. Mjerenje koncentracija proteina odrađeno je pomoću spektrofotometra (Shimadzu, UV-1800) na valnoj duljini  $595\text{ nm}$ . Koncentracija proteina u soku pšenične trave izračunana je pomoću dobivene kalibracijske krivulje, a utvrđene vrijednosti izražene su u  $\text{mg ml}^{-1}$ . Dobiveni rezultati analizirani su pomoću statističkog programa SAS 9.4 for Windows. Izračunate su mjere opisne statistike (aritmetička sredina, standardna devijacija, standardna pogreška aritmetičke sredine, koeficijent varijacije (CV%), te minimum i maksimum). Jednofaktorijalnom analizom varijance ( $p<0,001$ ) utvrđen je utjecaj genotipa na koncentraciju proteina u soku pšenične trave, a statistički značajne razlike između srednjih vrijednosti utvrđene su Tukeyevim HSD testom ( $p<0,001$ ).

### Rezultati i rasprava

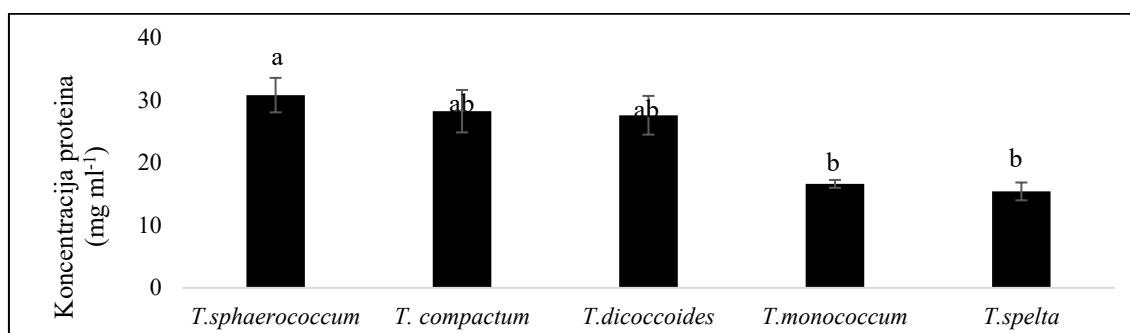
Prema našim saznanjima ovo je prvo istraživanje s ciljem određivanja koncentracije proteina u svježem soku pšenične trave različitih sorata kako bi se utvrdila varijabilnost koncentracija proteina u soku pšenične trave. Istraživanjima sličnima ovom određivana je koncentracija proteina u prahu pšenične trave, ali ne i u soku. Na temelju navedenih istraživanja utvrđeno je da se koncentracija proteina u prahu pšenične trave kretala se od  $18,45\text{ do }25\text{ mg ml}^{-1}$  (Popović i sur., 2020.). Isti autori su utvrdili da je konvencionalno uzgojena pšenična trava imala  $9,4\%$  viši sadržaj proteina u odnosu na organski uzgojenu pšeničnu travu. Ghumman i sur. (2017.) navode da se koncentracija proteina u prahu listova pšenične trave kretala od  $37,3\%$  do  $47,4\%$ , dok se prahu soka pšenične trave kretala od  $22,01\%$  do  $25,77\%$ .

Na temelju jednofaktorijske analize varijance utvrđene su statistički značajne razlike u koncentraciji proteina u soku pšenične trave hrvatskih sorata pšenice ( $F=24,21$ ;  $df=13$ ;  $p<0,001$ ). U provedenom istraživanju, u skupini hrvatskih sorata najniža koncentraciju proteina u soku pšenične trave utvrđena je kod sorte Renata ( $24,18 \text{ mg ml}^{-1}$ ), dok je najviša koncentracija proteina utvrđena kod sorte Zlata ( $58,20 \text{ mg ml}^{-1}$ ), što predstavlja vrlo širok raspon koncentracije proteina u soku pšenične trave (Grafikon 1). Prosječna koncentracija proteina u uzorcima soka hrvatskih sorata iznosila je  $38,92 \pm 2,26 \text{ mg ml}^{-1}$ , što je čak 15 puta više nego u listovima špinata ( $2,50 \pm 0,09 \text{ mg ml}^{-1}$ ) (Kumar i sur., 2015.).



Grafikon 1. Prosječne koncentracije proteina u soku pšenične trave hrvatskih sorata

U soku pšenične trave divljih srodnika u odnosu na hrvatske sorte utvrđene su niže koncentracije proteina (Grafikon 2). Prosječna koncentracija u skupini divljih srodnika iznosila je  $23,76 \pm 2,29 \text{ mg ml}^{-1}$ . Najviša koncentracija proteina utvrđena je u soku *Triticum sphaerococcum* ( $30,85 \pm 2,76 \text{ mg ml}^{-1}$ ), dok je najniža koncentracija utvrđena kod *Triticum spelta* ( $15,44 \pm 1,43 \text{ mg ml}^{-1}$ ).



Grafikon 2. Prosječne koncentracije proteina u soku pšenične trave u skupini divljih srodnika

Jednofaktorijskom analizom varijance utvrđene su statistički značajne razlike između hrvatskih sorata i divljih srodnika u koncentraciji proteina u soku pšenične trave ( $F=14,089$ ;  $p<0,001$ ), pri čemu su hrvatske sorte imale približno 64 % višu koncentraciju proteina u soku pšenične trave.

Rezultati provedenog istraživanja ukazuju na veliku varijabilnost koncentracija proteina u pšeničnoj travi hrvatskih sorata (CV=30,69 %) i u soku divljih srodnika pšenice (CV=30,51 %). Iako se ispitivane skupine međusobno razlikuju po utvrđenim koncentracijama proteina u soku, gotovo je jednaka varijabilnost koncentracija u uzorcima. S obzirom na to, a u svrhu daljnjeg istraživanja nutritivne vrijednosti, moguće je izabrati genotipove s visokom koncentracijom kako bi se utvrdila bioraspoloživost proteina ili kako bi se genotipovi s visokom koncentracijom preporučili za upotrebu u obliku dodatka prehrani bogatog proteinima. Za razliku od zrna soje koja ima oko 36 % proteina, te se zbog toga smatra izvrsnim biljnim izvorom proteina, sok pšenične trave kao i zeleno lisnato povrće ima značajno niži sadržaj proteina. Na temelju provedenog istraživanja, utvrđeno je da sok pšenične trave ima oko 4 g 100 g<sup>-1</sup> proteina, što čini pšeničnu travu izvrsnim izvorom proteina u odnosu na zeleno lisnato povrće. Prema tome, konzumacijom soka od pšenične trave, samog ili u kombinaciji s nekim drugim sokovima, može se povećati dnevni unos proteina.

### Zaključak

S nutritivnog gledišta pšenična trava ima izrazito bogat sastav. Preliminarnim istraživanjem na ukupno 19 genotipova pšenice utvrđen je vrlo širok raspon koncentracija proteina u soku pšenične trave. U skupini hrvatskih sorata najveća koncentracija proteina utvrđena je kod sorte Zlata (58,20 mg ml<sup>-1</sup>), dok je prosječna koncentracija proteina iznosila 38,92 ± 2,26 mg ml<sup>-1</sup>. U skupini divljih srodnika prosječna koncentracija proteina iznosila je 23,76 ± 2,29 mg ml<sup>-1</sup>, a najviša koncentracija izmjerena je u soku *Triticum sphaerococcum* (30,85 ± 2,76 mg ml<sup>-1</sup>). Na osnovu utvrđenog sadržaja proteina u soku pšenične trave, koji je viši od sadržaja u većini zelenog lisnatog povrća, pšenična trava je vrlo dobar izvor proteina za sve one koji žele obogatiti svoju prehranu proteinima iz biljnih izvora.

### Napomena

Istraživanje je provedeno u sklopu Uspostavno-istraživačkog projekta UIP 2017–05–4292 pod nazivom „Genotipska specifičnost pšenične trave (*Triticum aestivum* L.) visokonutritivnog prirodnog dodatka prehrani“ financiranog od Hrvatske zaklade za znanost.

### Literatura

- Bar-Sela G., Tsalic M., Fried G., Goldberg H. (2007). Wheat grass juice may improve hematological toxicity related to chemotherapy in breast cancer patients: a pilot study. *Nutrition and cancer*. 58(1): 43-48.
- Ben-Arye E., Goldin E., Wengrower D., Stamper A., Kohn R., Berry E. (2002). Wheat grass juice in the treatment of active distal ulcerative colitis: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 37(4): 444-449.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 72(1-2): 248-254.
- Braun H.J., Atlin G.N., Payne T.S. (2010). Multi-location testing as a tool to identify plant response to global climate change. *Climate change and crop production*, Reynolds M.P. (eds.), 115-139., Chippenham, UK: CPI Antony Rowe
- Fatiukha A., Filler N., Lupo I., Lidzbarsky G., Klymiuk V., Korol A. B., Krugman T. (2019). Grain protein content and thousand kernel weight QTLs identified in a durum × wild emmer wheat mapping population tested in five environments. *Theoretical and Applied Genetics*, 133: 119-131.
- Ghumman, A., Singh, N., Kaur, A. (2017). Chemical, nutritional and phenolic composition of wheatgrass and pulse shoots. *International journal of food science & technology*. 52(10): 2191-2200.

- Kumar D.A., Anusha S.V., Oruganti S., Deshpande M., Zehra A., Tiwari A.K. (2015). Raw versus cooked vegetable juice. *Nutrafoods*. 14(1): 27-38.
- Mathur S., Mathur R., Kohli G. K. (2017). Therapeutic Use of Wheat Grass Juice for the Treatment of Anemia in Young Women of Ajmer City (Rajasthan, India). *International Journal of Nutritional Sciences*. 2(1): 2-5.
- Nigro D., Gadaleta A., Mangini G., Colasuonno P., Marcotuli I., Giancaspro A., Blanco A. (2019). Candidate genes and genome-wide association study of grain protein content and protein deviation in durum wheat. *Planta*. 249(4): 1157-1175.
- Oury F. X., Berard P., Brancourt-Hulmel M., Heumez E., Pluchard P., Rousset M., Lecomte C. (2003). Yield and grain protein concentration in bread wheat: a review and a study of multi-annual data from a French breeding program [*Triticum aestivum* L.]. *Journal of Genetics and Breeding*. 57(1): 59-68.
- 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): 23-28.
- Popović, B.M., Štajner, D.M., Ždero-Pavlović, R.Z., Bodroža-Solarov, M.I., Ugrenović, V.M., Marić, B.D., Pezo, L.L. (2020). Comparison between Organic and Conventional Spelt and Wheatgrass juice. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*. 64(4): 514-522.
- Roberfroid M.B. (2000). Defining functional foods. *Functional foods Concept to product*, Gibson G. R., Williams C. M (eds.), 9-25. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC
- Shewry P. R., Halford N. G. (2002). Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of experimental botany*. 53(370): 947-958.
- Triboï E., Martre P., Triboï-Blondel A. M. (2003). Environmentally-induced changes in protein composition in developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *Journal of experimental botany*. 54(388): 1731-1742.

## Variability of protein content in wheatgrass juice

### Abstract

Wheatgrass is a highly nutritious natural dietary supplement that can be consumed as fresh juice, powder, or tablets. Due to its diverse and rich chemical composition, it is recommended to be used to preserve health, and as a supplement to prevent the development of various diseases. The aim of the study was to determine the protein concentration in fresh wheatgrass juice in 14 Croatian cultivars and five wild wheat relatives. A statistically significant difference in protein concentration was found between Croatian cultivars and wild relatives of wheat ( $F=14.089$ ;  $p < 0.001$ ). The average protein concentration in the juice of Croatian cultivars was  $38.92 \pm 2.26 \text{ mg ml}^{-1}$ , while in wild relatives it was  $23.76 \pm 2.29 \text{ mg ml}^{-1}$ .

**Key words:** wheatgrass, cultivars, proteins, functional food

## Gen kolekcija strnih žitarica FAZOS-a

Sonja Petrović, Sunčica Guberac, Andrijana Rebekić, Vedran Orkić, Vlado Guberac, Sonja Vila

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (spetrovic@fazos.hr)*

### Sažetak

Održavanje stabilnosti poljoprivredne proizvodnje je od iznimne važnosti ne samo na nacionalnoj već i na globalnoj razini. Nacionalni program očuvanja i održive uporabe biljnih genetskih izvora za hranu i poljoprivredu u Republici Hrvatskoj usvojen je u listopadu 2013. godine, a Fakultet agrobiotehničkih znanosti je jedna od institucija koja vrlo aktivno sudjeluje u aktivnostima Nacionalnog programa kroz održavanje i regeneraciju aktivne kolekcije žitarica i kukuruza. U razdoblju od 2006. do 2020. prikupljeno je nešto više od 600 primki strnih žitarica ozime i jare pšenice, ozimog i jarog ječma, ozime zobi, raži i pšenoraži. U kolekciji prevladavaju kultivari priznati od 1905. do 2020. godine, no osim njih kolekciju čine i divlji srodnici te prirodne populacije. Svake godine se veći dio primki održava u poljskim pokusima na pokušalištu „Tenja“ Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Osim fenotipske varijabilnosti gen kolekcije pšenice istraživanja se temelje i na ispitivanju različitosti na DNA razni.

**Ključne riječi:** biljni genetski izvori, žitarice, morfološka svojstva, genetska različitost

### Uvod

Biljni genetski izvori (BGI) imaju ključnu ulogu u očuvanju genetske raznolikosti i u osiguravanju sigurnosti proizvodnje hrane u svijetu. Temelj su razvoja poljoprivredne proizvodnje još od njenoga početka prije 10 000 godina. Poljoprivrednici i oplemenjivači biljaka ih koriste kao resurs za stvaranje novih kultivara prilagođenih klimatskim promjenama te za poboljšanje kvalitete i prinosa. Genetska raznolikost je sadržana u sortama, hibridima, lokalnim populacijama i divljim srođnicima koji se koriste u poljoprivrednoj proizvodnji. Održavanje stabilnosti poljoprivredne proizvodnje je od iznimne važnosti ne samo na nacionalnoj već i na globalnoj razini. Modernizacija poljoprivrede dovela je do nestanka ili smanjenja broja autohtonih biljnih vrsta, starih sorata ili kultura čime je smanjena genetska raznolikost. Vrlo je teško predvidjeti utjecaj okoliša (abiotskog ili biotskog) na poljoprivrednu proizvodnju, a njena stabilnost može biti ugrožena zbog uzgoja smanjenog broja kultivara i kultiviranih biljnih vrsta koje bi mogli nadomjestiti eventualne gubitke u prinosu. Očuvanje biljnih genetskih izvora će te pridonijeti i spriječiti iščezavanje biološke raznolikosti koju nije moguće nadoknaditi.

Nacionalni program očuvanja i održive uporabe biljnih genetskih izvora za hranu i poljoprivredu u Republici Hrvatskoj usvojen je u listopadu 2013. godine za trogodišnje razdoblje, od 2014. do 2016. godine, zatim na razdoblje od 2017.-2020., a u tijeku je razrada plana za sljedeće razdoblje od 2021. do 2027. godine. Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek je jedna od institucija koja vrlo aktivno sudjeluje u aktivnostima Nacionalnog programa kroz održavanje aktivne kolekcije žitarica i kukuruza, održavanje sigurnosnih poljskih kolekcija vinove loze te kroz sudjelovanje u Radnim skupinama Industrijsko bilje, Povrće, Žitarice i kukuruz, Ljekovito i aromatično bilje, Voće, podskupina Kontinentalno voće i Vinova loza.



## Prikupljanje sjemena i održavanje gen kolekcije primki strnih žitarica

Godine 2006. je započelo prikupljanje sjemena primki različitih genotipova ozime krušne pšenice. Sjeme je donirano od strane domaćih (Poljoprivredni institut Osijeku, Agrigenetics d.o.o., Jošt sjeme d.o.o. i Bc institut) i stranih (IFA Tulln, Institut za ratarstvo i povrtarstvo Novi Sad) oplemenjivačkih instituta i kuća. U razdoblju od 2006. do 2020. prikupljeno je nešto više od 600 primki strnih žitarica ozime i jare pšenice, ozimog i jarog ječma, ozime zobi, raži i pšenoraži. Gen kolekcija se sastoji od 36 diploidnih ( $2n=14$ ), 22 tetraploidnih ( $2n=28$ ) i 529 heksaploidnih ( $2n=42$ ) genotipova pšenice, zatim 14 genotipova ječma, tri raži, četiri pšenoraži i 34 genotipa zobi. U kolekciji prevladavaju priznati kultivari no osim njih kolekciju čine i divlji srodnici te prirodne populacije koje su priznate od 1905. do 2020. godine

Svake godine se veći dio primki održava u poljskim pokusima na pokušalištu „Tenja“ Fakulteta agrrobiotehničkih znanosti Osijek (Slika 1).



Slika 1. Pokusno polje strnih žitarica FAZOS-a (foto original: S.Petrović)

Genotipovi se siju u dva ponavljanja po slučajnom bloknom rasporedu u manjim parcelicama od  $2,5 \text{ m}^2$ . Za održavanje pokusa primjenjuje se standardna agrotehničke mjere uređivanja, prihrane i zaštite.

## Različitos primki strnih žitarica

Kolekcija strnih žitarica obuhvaća primke s pet kontinenta iz 25 država svijeta. S obzirom na njihovo podrijetlo te godinu registracije ili priznavanja vrlo je velika njihova morfološka i agronomska raznolikost te različitost i na DNA razini. Istraživanja fenotipske i genotipske različitosti obavljaju se većinom na pšenici. U kolekciji je zastupljen velik broj vrsta i podvrsta roda *Triticum* (Slika 2). Fenotipizacija kultivara pšenice temelji se na procjeni i opisima morfoloških i agronomskih svojstava. Opisivanje morfoloških svojstava provodi se koristeći Pravilnik o postupku utvrđivanja različitosti, ujednačenosti i postojanosti sorti

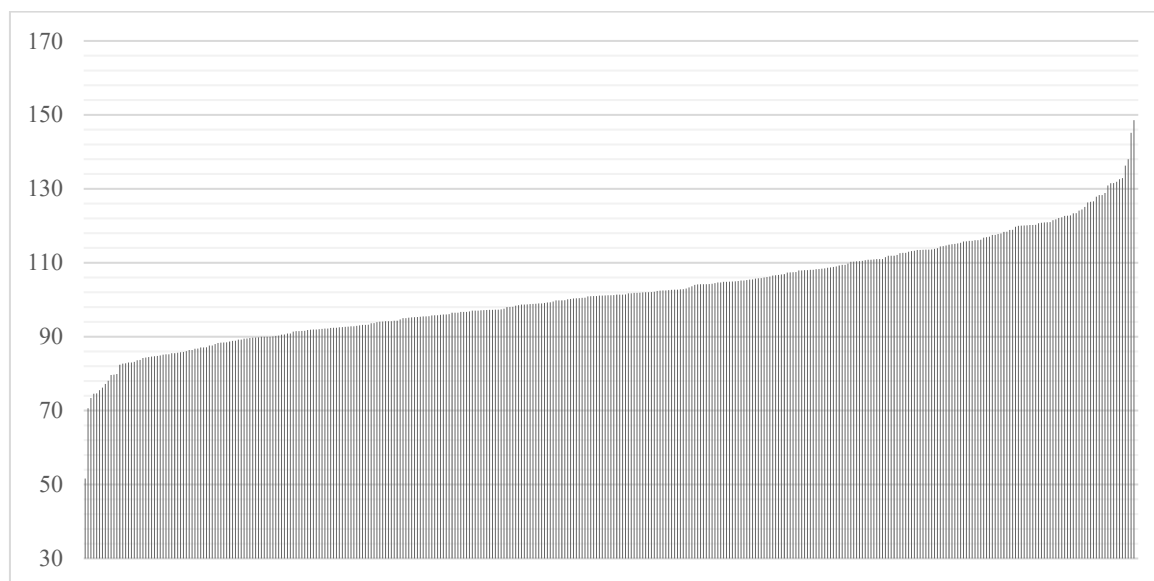
(DUS) te sukladno UPOV-im (International Union for the Protection of New Varieties of Plants) vodičima. Svojstva koja se ocjenjuju su najčešće uvjetovana major genima na koja okoliš ne utječe značajno te s obzirom da se radi o samooplodnim vrstama svojstva se ne bi trebala mijenjati iz godine u godinu, što ih čini fenotipski stabilnim svojstvima. Metode opažanja svojstava temelje se na mjerenju, vizualnom promatranju grupe biljaka, individualnih biljaka ili dijelova biljaka. Procjenjuje se ekspresija svakoga pojedinoga promatranoga svojstva na temelju skale odnosno ocjena u preporučenim fazama razvoja, koristeći decimalni kod faza razvoja prema EUCARPIA skali (Bulletin Br.7.1974.). Ocjenjuju se sljedeća svojstva tip busanja, frekvencija biljaka s povijenim listom zastavičarom, vrijeme klasanja (prvi klasić vidljivi na 50 % klasova), voštana prevlaka na rukavcu lista zastavičara, voštanost plojke (donja strana) lista zastavičara, voštanost klasa, voštana prevlaka vrata, visina (stabljika, klas, osje i produžeci pljevica), forma klasa u profilu, zbijenost klasa, prisutnost osja ili produžetka pljevica, boja klasa i boja zrna. Mjerenje agronomskih svojstava provodi se tijekom i nakon vegetacije. Procjena agronomskih svojstava se provode svake godine, i to su: sklop biljaka (SB), visina biljke (VB), duljina klasa (DK), broj dana do klasanja (BDK), broj klasića po klasu (BKK), broj zrna po klasu (BZK), masa klasa (MK), masa zrna po klasu (MZK), masa 1000 zrna (MTZ), hektolitarska masa (HM), urod zrna (UZ). Svojstva VB i DK, BKK, BZK, MK i MZK se mjere na 25 nasumce odabranih biljaka iz svake repeticije za svaki genotip, nakon čega se izračunava srednja vrijednost svojstva. Svojstva MTZ, HM i UZ se mjere nakon žetve. Urod zrna se preračunava preko mase zrna po parceli u tone po hektaru (na 13 % vlage).



Slika 2. Morfološka varijabilnost vrsta roda *Triticum*: (a) *Triticum monococcum*; (b) *Triticum dicoccoides*; (c) *Triticum durum*; (d) *Triticum spelta*; (e) *Triticum compactum*; (f) *Triticum sphaerococcum*; (g) *Triticum aestivum* (foto original: S.Petrović)

Tijekom višegodišnjih ispitivanja utvrđena je vrlo visoka razina fenotipske varijabilnosti između genotipova u kolekciji koje su očekivane s obzirom na godinu priznavanja, oplemenjivačke ciljeve te različita područja uzgoja (Rukavina i sur., 2013., Kundakčić i sur., 2015., Drenjančević i sur., 2017.). Visina biljaka je svojstvo u kojem je ta varijabilnost najviše izražena. Visina genotipova pšenice u kolekciji (od 2012. do 2019.) se kretala u prosjeku od 55 cm u genotipa Tom Thumb do 147 cm u genotipa Sirban Prolifik (Grafikon 1). Od ostalih agro-morfoloških svojstava izdvajaju se duljina klasa koje se kreće od 3,5 cm (Bambi) do 25,02 cm (Ukrainka), zatim broj zrna u klasu koji se u prosjeku kreće od 19 do

70 zrna po klasu. Svojestvo uroda zrna je pod snažnim utjecajem ne samo genotipa već i okoliša tj. klimatskih promjena, koje su iz godine u godinu sve izraženije (Drenjančević i sur., 2017.). Tako se prosjeku vrijednosti uroda zrna kreću od 2,5 t/ha do 12 t/ha.



Grafikon 1. Raspon visine biljaka pšenice kolekcije FAZOS-a

Osim fenotipske varijabilnosti gen kolekcije pšenice istraživanja se temelje i na ispitivanju različitosti na DNA razni. U ispitivanju genetske različitosti kolekcije pšenice najčešće se koriste mikrosateliti ili ponavljajuće jednostavne sekvence (Simple Sequence Repeats - SSR) (Petrović i sur., 2012., 2017.), polimorfizam pojedinačnog nukleotida (Single Nucleotide Polymorphism - SNP) te DArT markeri (Diversity Arrays Technology) koji su alternativa mikročip tehnologiji markera (Guberac i sur., 2021.). Za dio gen kolekcije pšenice također je utvrđena i prisutnost funkcionalnih markera za visinu, fotoperiodizam te vernalizaciju (Guberac, 2020.). U sljedećem razdoblju buduća istraživanja raznolikosti strnih žitarica se planira koristiti fenotipizacija visoke propusnosti kao i genotipizacija pomoću sekvenciranja nove generacije.

## Zaključak

Očuvanje, dostupnost i korištenje biljnih genetskih izvora te njihova pohrana u banke biljnih gena od iznimne je važnosti za sigurnost hrane i poljoprivredne proizvodnje. Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek je jedna od institucija koja vrlo aktivno sudjeluje u aktivnostima Nacionalnog programa kroz održavanje aktivne kolekcije žitarica i kukuruza, održavanje sigurnosnih poljskih kolekcija vinove loze te kroz sudjelovanje u Radnim skupinama Industrijsko bilje, Povrće, Žitarice i kukuruz, Ljekovito i aromatično bilje, Voće, podskupina Kontinentalno voće i Vinova loza. U razdoblju od 2006. do 2020. gen kolekcije strnih žitarica FAZOS-a sastoji se od preko 600 primki heksaploidne, tetraploidne te diploidne pšenice, ječma, zobi te raži i pšenoraži. Kolekcija obuhvaća primke s pet kontinenata iz 25 država svijeta. S obzirom na njihovo podrijetlo te godinu registracije ili priznavanja vrlo je velika njihova morfološka i agronomska raznolikost te različitost i na DNA razini. Fenotipizacija kultivara pšenice temelji se na procjeni i opisima morfoloških i agronomskih svojstava, a genotipizacija na SSR, SNP i DArT markerima.

## Literatura

- Drenjančević L., Petrović S., Rebekić A., Guberac S., Guberac, V. (2017). Utjecaj klimatskih prilika na komponente prinosa krušne pšenice. Zbornik radova 52. hrvatski i 12. međunarodni simpozij agronoma. Vila S., Antunović Z. (ur.), 203-207. Dubrovnik, Hrvatska: 12.-17. veljače.
- Kundakčić B., Marić S., Petrović S., Rukavina I., Guberac V. (2015). Različitoš morfoloških osobina klasa germplazme pšenice u: Milan Pospišil (Ed), Zbornik radova 50. hrvatskog i 10. međunarodnog simpozija agronoma, Agronomski fakultet, Opatija, 2015, 221-226.
- Guberac S. (2020.): Asocijativna analiza fenotipskih svojstava heksaploidne pšenice i molekularnih markera. Doktorska disertacija. Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek.
- Guberac S., Galić V., Rebekić A., Čupić T., Petrović S. (2021). Optimizing accuracy of performance predictions using available morpho-physiological information in wheat breeding germplasm. *Annals of applied biology*, 178 (2021), 1-10.
- Petrović S., Marić S., Čupić T., Drezner G., Karsai I. (2012). Assessment of Genetic Diversity in Croatian Winter Wheat Varieties Using SSR and AFLP Markers. *Poljoprivreda/ Agriculture*. 18(2): 18-24
- Rukavina I., Marić S., Čupić T., Guberac V., Petrović S. (2013). Različitoš hrvatske germplazme pšenice na osnovi svojstava klasa. *Poljoprivreda*. 19(1): 3-10
- Petrović S., Marić S., Čupić T., Rebekić A., Rukavina I. (2017): Assessment of molecular and phenotypic diversity among winter wheat cultivars. *Genetika*, 49 (2): 583-598.
- Petrović S., Čupić T., Guberac S., Rebekić A., Vila S. (2017). Analysis of population structure in bread wheat using SSR markers. 52. hrvatski i 12. međunarodni simpozij agronoma. Vila S., Antunović Z. (ur.). Osijek: Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, 2017, 242-246.

## FAZOS gen collection of cereals

### Abstract

Maintaining the stability of agricultural production is essential not only on national but also global level. The National program of conservation and sustainable use of plant genetic resources for food and agriculture in the Republic of Croatia was adopted in October 2013. The Faculty of agrobiotechnical sciences Osijek is actively engaged in activities of the National program through maintenance and regeneration of cereal collection. In period from 2006 to 2020 we collected over 600 accessions of hexaploid, tetraploid, diploid winter and spring wheat, winter and spring barley, winter oat, rye and triticale. Collection is mainly consisted of cultivars registered from 1905 to 2020, but also from wild relatives and landraces. Every year most of the collection is sown at FAZOS „Tenja“ field trials. In addition of phenotypic variability research of wheat gen collection, the research is also based on of diversity at DNA level.

**Key words:** plant genetic resources, cereals, morphological traits, genetic diversity

## Modeling the long-term response of yield to heat stress for maize genotypes of different maturity

Domagoj Stepinac<sup>1</sup>, Ivan Pejić<sup>2,3</sup>, Domagoj Šimić<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>*Bc Institute for Breeding and Production of Field Crops, Rugvica, Dugoselska 7, Dugo Selo, Croatia (domagoj.stepinac@bc-institut.hr)*

<sup>2</sup>*University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Croatia*

<sup>3</sup>*Centre of Excellence for Biodiversity and Molecular Plant Breeding, Svetošimunska 25, Zagreb, Croatia*

<sup>4</sup>*Agricultural Institute Osijek, Južno predgrađe 17, Osijek, Croatia*

### Abstract

APSIM crop model simulations and stress degree days (SDD) index were used for predicting long-term grain yield (GY) response to heat stress (HS) for maize genotypes of different maturity groups as a potential breeding tool for ongoing climate change. GY estimates for three maize genotypes (FAO300, FAO400 and FAO500) and SDD values were analyzed and compared for three remote locations in Croatia for the period 1991 – 2019. The correlation coefficients between SDD and predicted GY ranged from -0.51 to -0.62 across the FAO groups and locations indicating a slight trend of increasing negative associations going eastward. Simulation of GY generally followed SDD values suggesting that the APSIM algorithms were responsive to severe HS growing conditions.

**Key words:** APSIM simulation, grain yield, maize, maturity, stress degree days (SDD)

### Introduction

Process-based cropping system simulation models offer a way to predict yield dynamics during the growing seasons. A wide number of crop models have been developed recently, whereby the Agricultural Production Systems sIMulator (APSIM, Holzworth et al., 2014) is arguably the most broadly used crop model globally (Morel et al., 2020). However, there is still knowledge gap limiting their use (Rötter et al., 2018) particularly when predictions are made under extreme weather conditions. In maize, such limitation is critical to evaluate stress response under ongoing climatic change, which is expected to bring more extreme weather across the world. Determining stress in maize, mostly drought and heat, is possible by several agro-climate indices. In Croatia, an aridity index (Kovačević et al., 2007) and an improved Palmer Drought Severity Index (Pandžić et al., 2021) were used among others for quantifying drought stress. However, Lobell et al. (2013) demonstrated that extreme heat as a stressor could have more critical role for maize production than drought in the US corroborating previous statistical studies of rainfed maize yields showing a strong negative yield response to accumulation of extreme temperatures (>30°C) and relative weak response to seasonal rainfall. The concept of Stress Degree Days (SDD, Idso et al., 1981) is utilized for decades to measure heat stress appearing also in recent studies (e.g. Zhu et al., 2019). Buhiniček et al., (2017) used it in a six-decade study in Croatia based on official data from Croatian Meteorological and Hydrological Service to show that irregular weather conditions during maize growing season are becoming more prominent in the last three decades. The objectives of this paper were (1) to generate grain yield estimates according to APSIM simulations for three remote locations in Croatia (Rugvica, Kutjevo and Osijek) during the last two decades for three maize genotypes belonging to maturity groups FAO300, FAO400 and FAO500 and (2) to compare the simulation results with SDD values computed for three locations.

## Materials and methods

Daily weather data for precipitation, air temperature (minimum and maximum) and solar radiation was obtained from the AGRI4CAST database using information for the grids: 79129 Rugvica (N 45.68793; E 16.30936); 78134 Kutjevo (N 45.35677; E 17.87238); and 79136 Osijek (N 45.53097; E 18.54105) for the period from April to October of each year (AGRI4CAST, 2021). The impact of heat stress on grain yield was estimated using stress degree days (SDD) concept (Idso et al., 1981; Zhu et al., 2019) calculated as

where  $t$  represents the daily time step,  $N$  is the total number of days in each growing period,  $DD$  is degree days, and  $Ta$  is air temperature. Simulations were performed using the APSIM platform (Holzworth et al., 2014) for the same period with no management constraints selecting default variety options. The maize genotypes representing three FAO maturity groups were Pioneer® cultivars P38H20 (FAO300), P34K77 (FAO400) and P33M54 (FAO500). An uncalibrated model of APSIM evaluations was used assuming unchanged (invariant) genotypes with planting density of 7.1 plants  $m^{-2}$  (FAO 300), 6.4 plants  $m^{-2}$  (FAO 400) and 6.0 plants  $m^{-2}$  (FAO 500).

## Results and discussion

SDD values fluctuated considerably during the two-decade period ranging from less than 10 in 2014 to more than 90 in 2012 (Figure 1). Generally, SDD values were alike at all three locations in a particular year, except for the period 2004 – 2009 when SDD values were somewhat higher for Osijek. In a previous study by Buhiniček et al., (2017), it was shown that accumulation rates of SDDs during the maize growing season at two remote sites in Croatia (Zagreb and Osijek) in the last three decades became generally much higher, though equivalent in a particular year. This is consistent with conclusions of the potential impacts of climate change on global maize production (Jones 2003; Lobell 2007, 2011; Ray 2019).

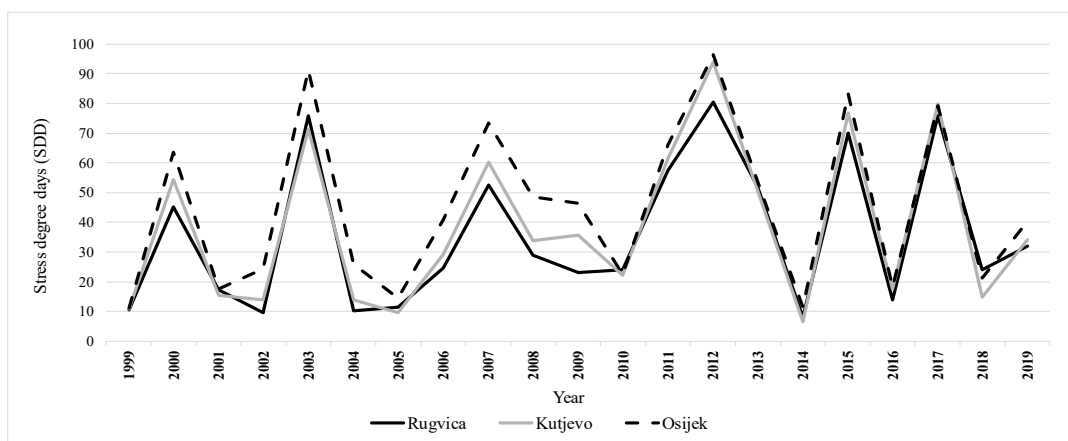


Figure 1. Stress Degree Days (SDD) for Rugvica, Kutjevo and Osijek in the two-decade period from 1999 to 2019

Predicted grain yields according to APSIM simulated data over three locations during the last two decades revealed generally similar results across the maturity groups in a particular year (Figure 2,3,4). Some differences among the FAO groups occurred in Rugvica in high-yielding seasons, though. The lowest yields were observed in Osijek in 2007 and 2012 when heat stress was more noticeable.



Figure 2. Predicted grain yield according to APSIM simulated data during the period of 1999 to 2019 in Rugvica for three maize hybrids differing in maturity

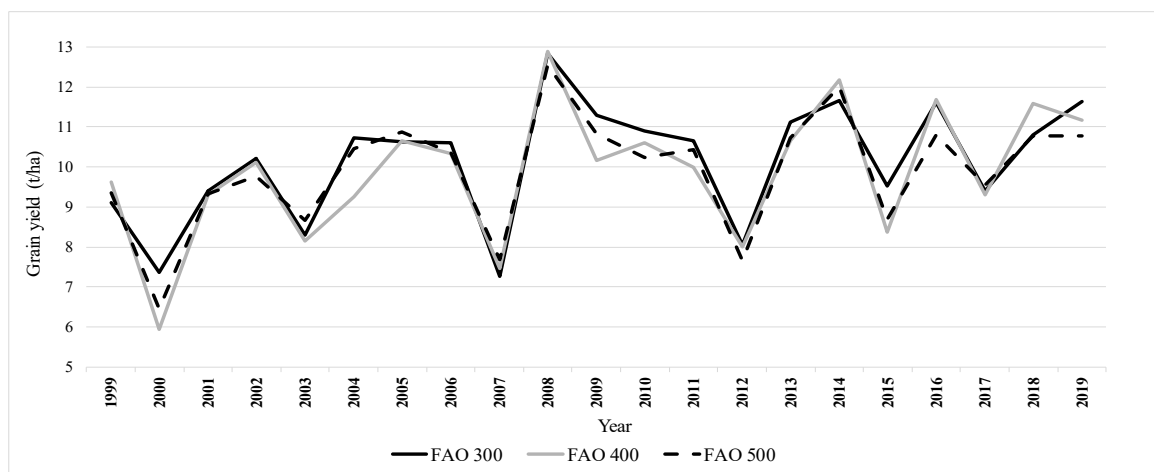


Figure 3. Predicted grain yield according to APSIM simulated data during the period of 1999 to 2019 in Kutjevo for three maize hybrids differing in maturity

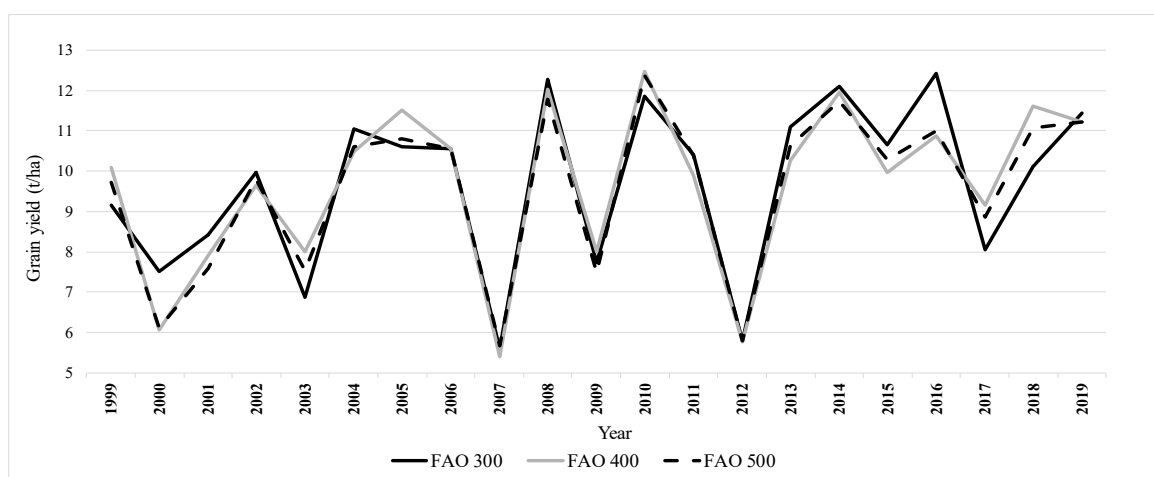


Figure 4. Predicted grain yield according to APSIM simulated data during the period of 1999 to 2019 in Osijek for three maize hybrids differing in maturity

The correlation coefficients between SDD and predicted grain yield ranged from -0.505 to -0.617 across the FAO groups and locations (Table 1). There is a slight trend of increasing negative associations going eastward showing generally tighter association in Osijek in all three maturity groups.

Table 1. Correlation coefficients between grain yield predicted by APSIM in three FAO maturity groups of maize and stress degree days (SDD) in the two-decade period across three locations in Croatia

Maturity group	Location		
	Rugvica	Kutjevo	Osijek
FAO300	-0.538	-0.538	-0.601
FAO400	-0.551	-0.586	-0.617
FAO500	-0.505	-0.574	-0.575

The next step should be calibration and validation of the simulated data with observed data. Preliminary results suggest that the simulation followed well the observed results. From the plant-breeding perspective, it would be worthwhile to include variant genotypes in order to make possible to take the genetic contribution into account when predicting long-term grain yield.

## Conclusion

Regarding the SDD values, our results demonstrate irregular and occasionally very hot weather conditions during maize growing seasons over last two decades in Croatia. Simulation data for grain yield generally followed SDD values indicating that the APSIM algorithms were responsive to more severe heat growing conditions.

## Acknowledgement

This research was performed within the AGRO-DROUGHT-ADAPT project (PKP-2016-06-8290) funded by the Environmental Protection and Energy Efficiency Fund (FZOEU) and the Croatian Science Foundation (HRZZ) within the Program of the Government of the Republic of Croatia for encouraging research and development activities in the area of climate change adaptation.

## References

- AGRI4CAST Resources Portal. Available online:  
<https://agri4cast.jrc.ec.europa.eu/DataPortal/Index.aspx?o> (accessed on 02 March 2021).
- Buhiniček I., Kaučić D., Kozić Z., Vragolović A., Gunjača J., Šarčević H., Jukić M., Stepinac D. (2017). Stress heat units and grain yields of maize testcrosses during 20 years of breeding. In: Book of Abstracts of 52nd Croatian & 12th International Symposium on Agriculture, Vila S., Antunović Z. (eds), 76. Dubrovnik, Croatia: Faculty of Agriculture, University J.J. Strossmayer in Osijek.
- Idso S.B., Jackson R.D., Pinter Jr P.J., Reginato R.J., Hatfield J.L. (1981). Normalizing the stress-degree-day parameter for environmental variability. *Agric. Meteorol.* 24, 45-55.
- Jones P.G., and Thornton P.K. (2003). The potential impacts of climate change on maize production in Africa and Latin America in 2055. *Glob. Environ. Change.* 13(1): 51-59
- Holzworth D.P., Hunt N.I., DeVoil P.G., Zurcher E.J., Herrmann N.I., McLean G., Chenu K., Van Oosterom E J., Snow V., Murphy C., Moore A.D., Brown H., Whish J.P.M., Verrall S., Fainges J., Bell L.W., Peake A.S., Poultona P.L., Hochman Z., Thorburn P.J., Gaydon D.S., Dalgliesh N.P., Rodriguez D., Cox H., Chapman S., Doherty A., Teixeira E., Sharp J., Cichota R., Vogeler I., Li F.Y., Wang E., Hammer G.L., Robertson M.J., Dimes J.P., Whitbread A.M., Hunt J., Van Rees H., McClelland T., Carberry, P., Hargreaves J.N.G., MacLeod N.,



- McDonald C., Harsdorf J., Wedgwood S., Keating B.A. (2014). APSIM—evolution towards a new generation of agricultural systems simulation. *Environ. Model. Softw.* 62, 327–350.
- Kovačević V., Šimić D., Šoštarić J., Josipović M. (2007). Precipitation and temperature regime impacts on maize yields in Eastern Croatia. *Maydica*. 52(3): 301-305.
- Lobell D.B., Hammer G.L., McLean G., Messina C., Roberts M.J., Schlenker W. (2013). The critical role of extreme heat for maize production in the United States. *Nature Climate Change*. 1-5.
- Lobell D.B., Banziger M., Magorokosho C., Vivek B. (2011). Nonlinear heat effects on African maize as evidenced by historical yield trials. *Nature Climate Change*. 1, 42-45.
- Lobell D.B., and Field C.B. (2007). Global scale climate-crop yield relationships and the impacts of recent warming. *Environ. Res. Lett.* 2, 014002.
- Morel J., Parsons D., Halling M. A., Kumar U., Peake A., Bergkvist G., Brown H., Hetta M. (2020). Challenges for Simulating Growth and Phenology of Silage Maize in a Nordic Climate with APSIM. *Agronomy*. 10(5): 645.
- Pandžić K., Likso T., Pejić I., Šarčević H., Pecina M., Šestak I., Tomšić D., Mahović N. S. (2021). Application of the Self-Calibrated Palmer Drought Severity Index for Estimation of Drought Impact on Maize Grain Yield in Pannonian Part of Croatia. Preprint – <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-219077/v1A>
- Ray D.K., West P.C., Clark M., Gerber J.S., Prishchepov A.V., Chatterjee S. (2019). Climate change has likely already affected global food production. *Plos One*. 14, e0217148.
- Rötter R. P., Appiah M., Fichtler E., Kersebaum K. C., Trnka M., Hoffmann M. P. (2018). Linking modelling and experimentation to better capture crop impacts of agroclimatic extremes—A review. *Field Crops Research*. 221, 142-156.
- Zhu P., Zhuang Q., Archontoulis S. V., Bernacchi C., Müller C. (2019). Dissecting the nonlinear response of maize yield to high temperature stress with model-data integration. *Glob. Change Biol.* 25 (7): 2470-2484.

## Modeliranje višegodišnjeg odgovora prinosa zrna genotipova kukuruza različite zriobe na uvjete toplinskog stresa

### Sažetak

Modeliranje simulacije usjeva (APSIM) i SDD (*stress degree days*) indeks korišteni su za predviđanje dugoročnog prinosa zrna (PZ) na toplinski stres (TS) kod genotipova kukuruza različitih grupa zrenja kao potencijalni oplemenjivački alat za klimatske promjene. PZ procenjen za tri genotipa kukuruza (FAO300, FAO400 i FAO500) i vrijednosti SDD-a analizirane su i uspoređene na tri udaljene lokacije u Hrvatskoj za razdoblje od 1991. do 2019. godine. Korelacijski koeficijenti između SDD-a i predviđenog PZ-a kretali su se od -0,51 do -0,62 kroz FAO grupe i lokacije što ukazuje na blagi trend povećanja negativne pojave prema istoku. Simulacija PZ-a općenito je slijedila SDD vrijednosti te sugeriraju da su algoritmi APSIM-a reagirali na značajne uvjete rasta TS-a.

**Ključne riječi:** APSIM modeliranje, prinos zrna, kukuruz, zrioba, stresne toplinske jedinice (SDD)

## Utvrđivanje genetske varijabilnosti unutar sorte masline 'Piculja' molekularnim i morfološkim markerima

Aleš Vokurka, Kristina Batelja Lodeta, Snježana Bolarić, Lukša Hropić, Mia Majić, Đani Benčić

*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska  
(sbolaric@agr.hr)*

### Sažetak

Cilj istraživanja je na bazi morfoloških svojstava lista, ploda i koštice i SSR markera s 11 dogovornih početnica proučiti prisutnost i razinu unutar sorte varijabilnosti kod sorte masline 'Piculja' kako bi se ustanovilo postoji li potencijal za klonsku selekciju. Između stabala 'Piculje' utvrđene su značajne razlike u svojstvima oblika lisne plojke, duljine i širine koštice, koja su fenotipski stabilna, kao i razlike u SSR profilima na tri od 11 analiziranih lokusa. Utvrđena je prisutnost genetske varijabilnosti unutar sorte 'Piculja' na morfološkoj i molekularnoj razini, koja može biti osnova za klonsku selekciju i poboljšanje ove autohtone sorte.

**Ključne riječi:** *Olea europaea* L., unutar sortna varijabilnost, SSR, morfologija, fenotip

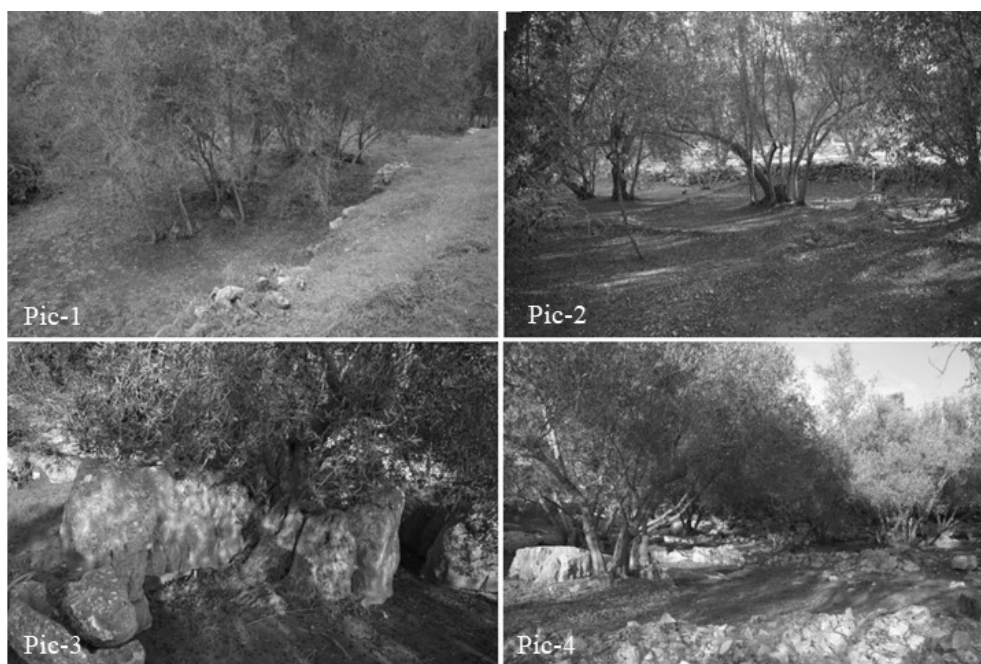
### Uvod

Hrvatsko jadransko područje obiluje germplazmom masline i većim brojem poznatih, vrlo rasprostranjenih sorata poput 'Oblice', 'Istarske bjelice' ili udomaćenih sorata poput 'Leccino' i 'Picholine'. Međutim, postoje i sorte lokalnog karaktera koje su manje poznate i često nedovoljno istražene, kao i niz različitih, varijabilnih genotipova maslina, koji ne predstavljaju neku određenu sortu već populaciju stranooplodnih genotipova koji se nalaze u redovitom uzgoju, poput maslina iz Luna na otoku Pagu. Često postoji i značajna, fenotipski uočljiva varijabilnost unutar pojedine sorte. Jedna od takvih, manje poznatih, ujedno i varijabilnih i manje istraženih sorata je 'Piculja', sorta zastupljena jedino na području južne Dalmacije, tj. Dubrovačko-neretvanske županije. Najgušća populacija 'Piculje' je na otoku Lastovu, a prema Buliću (1921.), 'Piculja' se na području Dubrovnika spominje još 1869. i vjerojatno je da se uzgajala i u vrijeme Dubrovačke republike (prije 1808.). To je sorta relativno kasnog dozrijevanja i izrazito bujne krošnje i vertikalnog rasta. Plodovi mogu ostati na stablu čak i do fenofaze cvatnje sljedeće godine. U usporedbi s 'Oblicom' ima višu tolerantnost na maslininog svrdlaša (*Rhynchites cribripennis*). Ne spada u hrvatske vodeće sorte, ali lokalno je od velikog značaja za proizvodnju ulja, a značajnu tehnološku ulogu ima kao oprašivač za druge sorte. Cilj ovog rada je bio dobiti uvid u genetsku varijabilnost unutar ograničene, ali hipotetski varijabilne grupe od četiri vrlo stara stabla 'Piculje'. Genetska varijabilnost unutar vrsta koje se u poljoprivrednoj proizvodnji razmnožavaju vegetativno, ukoliko ta varijabilnost sadrži svojstva zanimljiva s gospodarskog aspekta, predstavlja osnovu za klonsku selekciju, a dalje za proizvodnju sadnog materijala i priznavanje klonova. Postoji niz publikacija i znanstvenih izvještaja o primjeni DNA markera, posebno SSR markera (mikrosatelita), u istraživanju unutar sorte varijabilnosti kod masline, a koji se razlikuju po cilju istraživanja koji može biti ograničen na analizu varijabilnosti unutar jedne sorte ili na usporedbu stupnja unutar sorte varijabilnosti između više sorata ili populacija unutar iste ili različitih regija gdje je posebna pažnja u smislu istraživanja germplazme usmjerena na lokalne sorte. Veloso i sur. (2018.) su analizirali varijabilnost prisutnu unutar vrlo uskog područja (maslinika) na samo dvije sorte maslina, Noormohammadi i sur. (2009.)

istražuju unutar-sortnu varijabilnost tri glavne iranske sorte, a Muzzalupo i sur. (2010.) također analiziraju unutar-sortnu varijabilnost tri najrasprostranjenije talijanske sorte. S druge strane, Zaher i sur. (2011.) uspoređuju marokanske klonove masline s klonovima iz drugih zemalja, a Hosseini-Mazinani i sur. (2014.) uspoređuju iranske ekotipove i sorte sa sortama iz mediteranskog bazena. Lazović i sur. (2018.) analiziraju genetsku povezanost nekih od najznačajnijih sorata na istočnoj obali Jadrana kod kojih je prisutna homonimija, tj. kod sorata koje imaju isti naziv, ali su morfološki i fenotipski različite, što može biti pretpostavka za veći stupanj genetske sličnosti. Cilj istraživanja je na bazi morfoloških svojstava i molekularnih markera proučiti prisutnost i razinu unutar-sortne varijabilnosti kod sorte masline 'Piculja' kako bi se ustanovilo postoji li potencijal za klonsku selekciju.

### Materijal i metode

Uzorci listova i plodova sakupljeni su sa četiri stara stabla masline 'Piculja' (Pic-1 do Pic-4) na otoku Lastovu (Slika 1). S jednogodišnjih izboja na svakom stablu sakupljeno je po 40 listova i 40 plodova. Plodovi su sakupljeni ravnomjerno sa svih dijelova krošnje kako bi se osigurala reprezentativnost uzoraka. Koštica (endokarp) je izmjerena nakon odvajanja mesa ploda. Morfološki parametri listova i koštice, izvedeni su preko odnosa njihove duljine i širine, i to prema smjernicama IOOC-a (*International Olive Oil Council*), a njihova statistička analiza provedena je analizom varijance (ANOVA). Srednje vrijednosti su uspoređene LSD (*Least Significant Difference*) testom uz vjerojatnost pogreške  $p < 0,05$  (XLSTAT, 2020.).



Slika 1. Stabla masline sorte 'Piculja'

Uzorci svježeg lista za analizu DNA osušeni su u silika-gelu i samljeveni u vrlo fini prah u laboratorijskom oscilacijskom mlinu NM400 (Retsch GmbH, Njemačka). Genomska DNA izolirana je pomoću kita za izolaciju (DNeasy Plant Mini Kit, Qiagen, SAD) prema standardnom protokolu definiranom od strane proizvođača. Koncentracija izolirane DNA utvrđena je fluorimetrijski (*VersaFluor ver. 170-2402EDU*, Biorad, SAD) i razrijeđena je na radnu koncentraciju  $5 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ . Analiza SSR lokusa napravljena je pomoću 11 konsenzualnih (dogovorenih) početnica specifičnih za genom masline (Baldoni i sur., 2009.) (tablica 1), obojanih fluorescentnim bojama.

Tablica 1. SSR početnice korištene u proučavanju unutar sorte varijabilnosti sorte masline 'Piculja'

Naziv početnice	Boja	Naziv početnice	Boja	Naziv početnice	Boja
ssrOeUA-DCA3	6Fam	ssrOeUA-DCA16	6Fam	GAPU-101	6Fam
ssrOeUA-DCA5	Ned	ssrOeUA-DCA18	Ned	GAPU-103A	Vic
ssrOeUA-DCA9	Vic	UDO099-043	Vic	EMO90	Vic
ssrOeUA-DCA14	Ned	GAPU-71B	6Fam		

PCR reakcijska smjesa od 10 µl sadržavala je 1x PCR reakcijski pufer (10 mM Tris-HCl pH 8,3; 50 mM KCl; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> (*Sigma-Aldrich*, *SAD*), 0,2 mM nukleotida (dATP, dCTP, dGTP i dTTP; *Sigma-Aldrich*), po 0,8 µM F i R početnica (*AB*, *SAD*), *Taq* polimerazu (*Sigma-Aldrich*) i genomsku DNA. Amplifikacija je obavljena prema *touch-down* protokolu (Thiel i sur., 2003.), u *thermal cycleru Veriti™ 96-Well* (*AB*), prema sljedećem profilu reakcije: početna denaturacija na 95 °C/5 min; 8x *touch-down* ciklusa [95 °C/30 s, 62 °C/30 s (u svakom od osam ciklusa se smanjuje za 1 °C), 72 °C/30 s], zatim 28 ciklusa pri temperaturnim uvjetima 95 °C/30 s, 55 °C/30 s i 72 °C/30 s, sa završnom elongacijom 72 °C/5 min. Umnoženi fragmenti razdvojeni su u kapilarnoj elektroforezi (genetic Analyzer 3130, Applied Biosystems (*AB*), *SAD*) i očitani pomoću GeneScan™ 500 LIZ™ standard veličine (*AB*, *SAD*) i programskog paketa GeneMapper 4.0 (*AB*, *SAD*).

## Rezultati i rasprava

Analiza provedena na 11 dogovornih početnica ukazuje na postojanje genetske varijabilnosti unutar sorte 'Piculja', i to na tri lokusa i sedam alelnih kombinacija (Tablica 2). Najveća varijabilnost u odnosu na ostala stabla utvrđena je kod genotipa Pic-1 koji se od ostalih stabala razlikuje u dva SSR lokusa, dok se preostali genotipovi međusobno razlikuju u jednom lokusu (Tablica 2). Također je kod stabla Pic-1 utvrđena varijabilnost u većem broju svojstava (širina koštice, dužina i širina lista) u odnosu na ostala stabla (Tablica 3). Analiza varijance morfoloških svojstava, i to oblika lisne plojke, duljine i širine koštice ukazuje na značajne razlike ovih fenotipski stabilnih svojstava (Slika 2), ali ne i za oblik koštice (Tablica 3). Značajne razlike kod ovih svojstava, kao i u profilima SSR markera predstavljaju čvrsto uporište za potvrdu unutar sorte genetske raznolikosti kod 'Piculje'.

Tablica 2. SSR profili analiziranih stabala 'Piculje' (variranje u veličini alela, podebljano)

SSR početnica	Pic-1	Pic-2	Pic-3	Pic-4	'Piculja'- standard
ssrOeUA-DCA3	232/245	232/245	232/245	232/245	232/245
ssrOeUA-DCA5	208/212	208/212	208/212	208/212	208/212
ssrOeUA-DCA9	172/ <b>196</b>	172/ <b>204</b>	172/ <b>172</b>	172/ <b>196</b>	172/204
ssrOeUA-DCA14	173/191	173/191	173/191	173/191	173/191
ssrOeUA-DCA16	124/144	124/144	124/144	124/144	124/144
ssrOeUA-DCA18	171/ <b>175</b>	171/ <b>177</b>	171/ <b>177</b>	171/ <b>177</b>	171/177
UDO099-043	<b>178</b> /180	180/ <b>182</b>	180/ <b>182</b>	180/ <b>182</b>	180/182
GAPU-71B	126/126	126/126	126/126	126/126	126/126
GAPU-101	193/193	193/193	193/193	193/193	193/193
GAPU-103A	150/172	150/172	150/172	150/172	150/172
EMO90	188/198	188/198	188/198	188/198	188/198



Slika 2. Rodni izboj, list i koštica karakteristični za 'Piculju'

Tablica 3. Morfološka svojstva koštice i lista 'Piculje'

	Duljina (mm)	Širina (mm)	Oblik
Koštica			
Pic-1	13,59 a*	7,02 a	1,94 eliptičan (1,8 - 2,2)
Pic-2	13,49 a	6,54 c	2,06 eliptičan (1,8 - 2,2)
Pic-3	13,46 a	6,73 b	2,00 eliptičan (1,8 - 2,2)
Pic-4	12,34 b	6,24 d	1,98 eliptičan (1,8 - 2,2)
List			
Pic-1	47,9 b	12,5 b	3,84 eliptičan (<4)
Pic-2	58,6 a	11,3 c	5,24 eliptičan do kopljast (4 - 6)
Pic-3	59,4 a	11,6 c	5,12 eliptičan do kopljast (4 - 6)
Pic-4	58,1 a	13,3 a	4,38 eliptičan do kopljast (4 - 6)

\*Vrijednosti označene istim slovom u redu ne razlikuju se značajno na razini  $p < 0,05$  prema LSD testu

## Zaključak

Unutar populacije 'Piculje' postoji relevantna genetska baza za provedbu klonske selekcije. Ova tvrdnja je utemeljena na molekularnoj varijabilnosti na tri SSR lokusa i sedam alelnih kombinacija utvrđenih na ograničenom broju od samo tri stabla, i dodatno, potvrđena na temelju varijabilnosti stabilnih morfoloških svojstava. S ciljem utvrđivanja varijabilnosti drugih, manje stabilnih morfoloških svojstava potrebno je zasnovati komparativni nasad pod istim agroekološkim uvjetima u koji bi trebalo posaditi genotipove iz ovog istraživanja, ali i druge potencijalne klonove nakon šire analize molekularne varijabilnosti.

## Literatura

Baldoni L., Cultrera N.G., Mariotti R., Riccioloni C., Arcioni S., Vendramin G.G., Buonamici A., Porceddu A., Sarri, V., Ojeda M.A., Trujillo I., Rallo, L., Belaj A., Perri E., Salimonti A., Muzzalupo I., Casagrande A., Lain O., Messina R., Testolin R. (2009). A consensus list of microsatellites markers for olive genotyping. *Molecular Breeding*. 24: 213-231.

- Bulić S. (1921). Građa za dalmatinsku elajografiju. Poljoprivredno odjeljenje Pokrajinske uprave za Dalmaciju. Šibenik.
- Hosseini-Mazinani M., Mariotti R., Torkzaban B., Sheikh-Hassani M., Ataei S., Cultrera N.G., Pandolfi S., Baldoni L. (2014). High genetic diversity detected in olives beyond the boundaries of the Mediterranean sea. PLoS One. 9 (4): e93146.
- Lazović B., Klepo T., Adakalić M., Šatović Z., Baruca Arbeiter A., Hladnik M., Strikić F., Liber Z., Bandelj D. (2018). Intra-varietal variability and genetic relationships among the homonymic East Adriatic olive (*Olea europaea* L.) varieties. Scientia Horticulturae. 236: 175-185.
- Muzzalupo, I., Russo, A., Chuappetta, A.A., Benincasa, C., Perri, E. (2010). Evaluation of genetic diversity in Italian olives (*Olea europaea* L.) cultivars by SSR markers. Journal of Biotechnology. 150, 472–480.
- Noormohammadi Z., Hosseini-Mazinani M., Trujillo I. Belaj A. (2009). Study of intracultivar variation among main Iranian olive cultivars using SSR markers. Acta Biologica Szegediensi 53: 27-32.
- Thiel T., Michalek W., Varshney R.K., Graner A. (2003). Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). Theoretical Applied Genetics. 106: 411-422.
- Veloso M.M., Simões-Costa M.S., Carneiro L. C., Guimarães J.B., Mateus C., Fevereiro P., Pinto-Ricardo C. (2018). Olive tree (*Olea europaea* L.) diversity in traditional small farms of Ficalho, Portugal. Diversity. 10 (1): 5.
- XLSTAT (2020). Data Analysis and Statistical Solution for Microsoft Excell. Addinsoft. Paris. France.
- Zaher H., Boulouha B., Baaziz M., Sikaoui L., Gaboun F., Udupa S.M. (2011). Morphological and genetic diversity in olive (*Olea europaea* subsp. *europaea* L.) clones and varieties. Plant Omics. 4: 370-376.

## Determination of genetic variability within the olive variety 'Piculja' by molecular and morphological markers

### Abstract

The goal of the research was to assess the potential for clonal selection according to the level of the variability within the olive cv. 'Piculja', based on morphological traits of leaves, fruits, and stones, and 11 SSR consensual markers. Significant differences were found regarding phenotypically stabile traits such as leaf shape, the length and the width of the stone, but also in SSR profiles in three out of 11 loci. The genetic variability within the cv. 'Piculja' at the morphological and molecular level might be the starting point for clonal selection and the improvement of this local variety.

**Key words:** *Olea europaea* L., intravarietal variability, SSR, morphology, phenotype



**Povrćarstvo,  
ukrasno, aromatično  
i ljekovito bilje**

**04**

**Vegetable Growing,  
Ornamental, Aromatic  
and Medicinal Plants**





## Istrian garlic ecotypes differ in the content of allicin and volatile organosulfur compounds

Iva Bažon<sup>1,2</sup>, Dean Ban<sup>1,2</sup>, Igor Lukić<sup>1,2</sup>, Nikola Major<sup>1</sup>, Josipa Perković<sup>1</sup>, Bernard Prekalj<sup>1,2</sup>, Smiljana Goreta Ban<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Agriculture and Tourism, Karla Huguesa 8, Poreč, Croatia (smilja@iptpo.hr)*

<sup>2</sup>*The Centre of Excellence for Biodiversity and Molecular Plant Breeding (CoE CroP-BioDiv)*

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the diversity of local garlic ecotypes grown in Istria in relation to the content of allicin and particular volatile organosulfur compounds. The samples were analysed by liquid and gas chromatography, respectively, and compared to commercial garlic cultivars *Ail de Piolenc* and *Music*. Wide ranges of the content of allicin and specific volatiles were found in the analysed accessions. The first two principal components explained 60.95% of total variance and showed differences between Istrian ecotypes as well as between the ecotypes and the commercial cultivars. The variability found represents an important source of traits usable for breeding programs.

**Key words:** accessions, aromatic profile, breeding, diversity, environmental conditions

### Introduction

Garlic (*Allium sativum* L.) is one of the most consumed *Allium* crops well known for its therapeutic properties. It has anticarcinogenic, antimicrobial, antioxidant, anti-diabetic and other beneficial effects on human health (Block et al., 1993), attributed mainly to allicin and other organosulfur compounds (Soto et al., 2016).

The characteristic odour and taste of garlic derive from allin as a main cysteine sulphoxide in garlic. When garlic tissue is ruptured i.e. attacked by microbes, cut or pulverized and exposed to water, the vacuolar enzyme allinase transforms alliin, odourless and biologically ineffective cysteine sulfoxide, to cytotoxic and odoriferous allicin which is the predominant allyl thiosulfinate in garlic (Block et al., 1993). Allicin is very unstable and quickly metabolises into various odoriferous volatile compounds. In garlic plants this functions as a defense mechanism against predators (Rahman, 2007).

Garlic is a sterile species which propagates vegetatively from cloves. Differences among garlic clones in morphological traits and phytochemical content exist. Garlic ecotypes are important for their adaptation to specific agroecological conditions and they have developed distinct valuable traits adjusted to environmental conditions in particular region (Shaaf et al., 2014). A few investigations studying garlic germplasm diversity based on the content of allicin and organosulfur volatiles have been carried out so far (Camargo et al., 2005, Khar et al., 2011). Baghalian et al. (2005) found variations in allicin content among Iranian ecotypes collected from different locations. In a recent study by Fernandes et al. (2020) volatile compounds were used to distinguish onions from different cultivation areas. Despite these valuable reports, the diversity of allicin and organosulfur volatiles content in different garlic ecotypes and cultivars has not been studied extensively.

Local garlic ecotypes grown in Istria were previously described based on their morphological traits (Prekalj et al., 2019) and organosulfur volatile profile was presented for cv. *istarski crveni* (Bažon et al., 2020). The content of allicin in local Istrian garlic ecotypes has not been investigated so far. Therefore, the aim of this research was to evaluate the

diversity of Istrian garlic ecotypes based on the content of allicin and particular volatile compounds which could be significant for breeding programs.

## Material and methods

### Plant material and sampling

Twelve garlic ecotypes were collected from eight locations on Istrian peninsula and were given accession numbers as follows: Lindar (IPT 337, IPT 338), Rovinj (IPT 340), Pićan (IPT 341), Tinjan (IPT 342), Gračišće (IPT 343, IPT 344), Beram (IPT 345), Kaligarići (IPT 346, IPT 347) and Vižintini (IPT 348, IPT 349). The accession *Music* IPT 339 represented a commercial cultivar cultivated for several years at Lindar location. Commercial garlic cultivar *Ail de Piolenc* given an accession number IPT 357 was donated by the Association of garlic producers from France. Ecotypes were grown in different pedo-climatic conditions around Istrian peninsula.

### Determination of allicin

Ten cloves, one from each bulb, were sampled for allicin content. The extraction of bioactive compounds was performed by ultrasound-assisted extraction (UAE) in distilled water. Two grams of fresh sample were homogenized with a rotary bearing mill (Model HOMEX 6, Bioreba AG, Reinach, Switzerland). The sample was sonicated for 30 min and was left to macerate for 4h at room temperature. Afterwards, the sample was centrifuged at 5000 g for 15 min. The resulting supernatant was collected to a final volume of 10 mL with the extraction solvent. The solution was filtered through a 0.45 µm nylon filter prior to analysis.

Allicin was analysed using a HPLC system (Varian 330, Palo Alto, CA, USA) consisting of a solvent delivery unit, an autosampler, and a diode array detector. Reversed phase chromatographic separation was achieved according to de Diego et al. (2007) with some modifications. Briefly, 10 µL of the sample was injected onto a 250×4mm, 4µm particle size, C18 column (Superspher 100 RP-18, Agilent, Santa Clara, CA, USA) held at 28 °C, using 50/50 (V/V) methanol/water as a mobile phase at 0.6 mL min<sup>-1</sup>, isocratic. Allicin retention time and peak area at 240 nm were compared to those of a commercial analytical standard for identification and quantification, respectively.

### Determination of organosulfur volatile compounds

Isolation, analysis and identification of volatile compounds were carried out according to the method proposed by Bažon et al. (2020). Garlic cloves were crushed and 0.3 grams were added to 4 mL of distilled water in a 10 mL vial. The equilibration and the extraction were carried out at 40 °C for 5 min with stirring at 800 rpm, respectively, using a DVB-CAR-PDMS solid-phase microextraction (SPME) fibre (Supelco, Sigma Aldrich, Bellefonte, PA, USA).

Gas chromatograph with a flame ionization detector Varian 3350 (GC-FID; Varian Inc., Harbour City, CA, USA) was used with a Rtx-WAX 60 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm df column (Restek, Bellefonte, PA, USA). Oven temperature was set to increase from 40 °C to 245°C at 6°C/min and then kept for 10 min. Injector and detector temperatures were set at 245°C and 248°C, respectively. The carrier gas was helium at 17.5 psi at the column head.

Volatile compounds were identified by comparing their retention times to those of allyl mercaptan (≥90%), allyl sulphide (≥97%) and allyl disulphide (80%) standards. Linear

retention indices were compared to literature data and mass spectra, recorded by using a Varian 3900 gas chromatograph (GC) connected to a Varian Saturn 2100T mass spectrometer (GC-MS) (Varian Inc., USA) were compared to those from the NIST05 mass spectral library. The amounts for volatile components were reported as peak area counts obtained by GC-FID analysis.

#### Statistical analysis

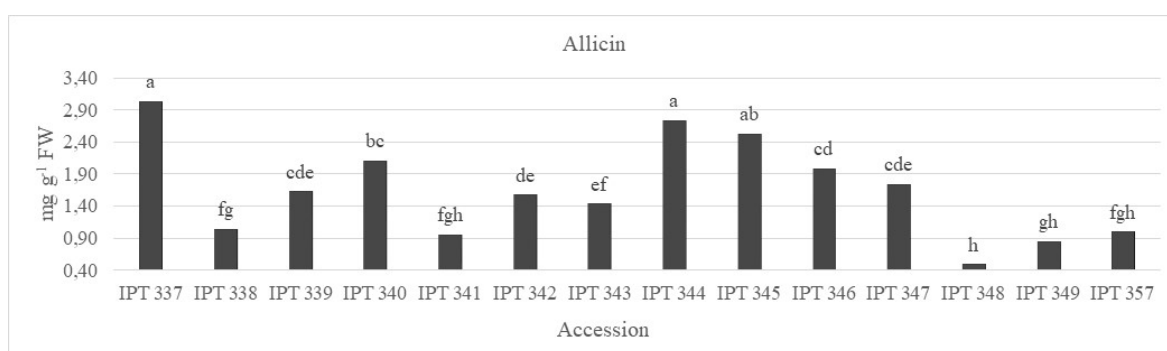
Data were processed by one-way analysis of variance (ANOVA) and principal component analysis (PCA) with Statistica 5.0 software (StatSoft Inc. Tulsa, OK, USA).

### Results and discussion

In all the garlic samples allicin (Fig. 1) and specific organosulfur volatile compounds were determined, namely: allyl mercaptan (AM), methyl thiirane (MT), methyl allyl sulphide (MAS), dimethyl disulphide (DMDS), hexanal (HEX), 1-propenyl methyl disulphide (1-P), dimethyl trisulfide (DMTS), methoxymethyl isothiocyanate (MI), 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene (3V4) and 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-5-ene (3V5) (Table 1).

Variability in allicin content of the analysed garlic ecotypes ranged from 0.49 mg g<sup>-1</sup> FW (IPT 348) to 3.05 mg g<sup>-1</sup> FW (IPT 337) (Picture 1). The allicin content of some ecotypes tested in our study was lower (IPT 338, IPT 341, IPT 343, IPT 348, IPT 349, IPT 357) than determined in studies from Khar et al. (2011) ranging from 1.48 to 5.32 mg g<sup>-1</sup> FW and Gonzalez et al. (2009) ranging from 2.70 to 5.21 mg g<sup>-1</sup> FW.

Mean peak area counts for volatile compounds are shown in Table 1. Significant differences were found for all the investigated volatile compounds, except for 1-P. Among Istrian ecotypes IPT 338 have shown the highest content of 3V4 whereas IPT 343 had the highest content of DMDS compared to the other accessions. The highest content in HEX was found in the commercial cultivars *Ail de Piolenc* (IPT 357) and *Music* (IPT 339) compared to the other accessions. The commercial cultivar *Ail de Piolenc* IPT 357 stood out with high contents of MT, MAS and DMTS. According to the results for allicin and DMDS, they were the most variable parameters (Picture 1 and Table 1).



Picture 1: Allicin content in tested garlic accessions (337-349 and 357).

<sup>1</sup>Different lower size letters above column charts denote significant differences between accessions determined by Fisher's LSD test at  $p \leq 0.05$ .

The first two principal components (PC) accounted for 60.9% of the total variance (Picture 2). The PC1 described 43.4% of total variance, while 17.5% was attributed to the PC2. PC1 was related mainly to MT, MAS, HEX, DMTS and MI, while PC2 was related to AM, 1-P and 3V4. Ecotypes with positive PC2 values, such as IPT 340, IPT 348, and IPT 349, were

clearly linked to higher AM content. The compounds with positive PC1 and negative PC2 coordinate values could be related to IPT 338, the most distinguished among Istrian ecotypes.

The plot defined by the first two PCs showed a clear difference between Istrian ecotypes and cultivars *Ail de Piolenc* and *Music* (Picture 2). It was observed that *Ail de Piolenc* and *Music* were abundant in MAS, DMTS, HEX, MT and MI, located in the first quadrant with positive PC1 and PC2 values. Aromatic profile of *Ail de Piolenc* and *Music* garlic cultivars obviously differed from those of Istrian ecotypes.

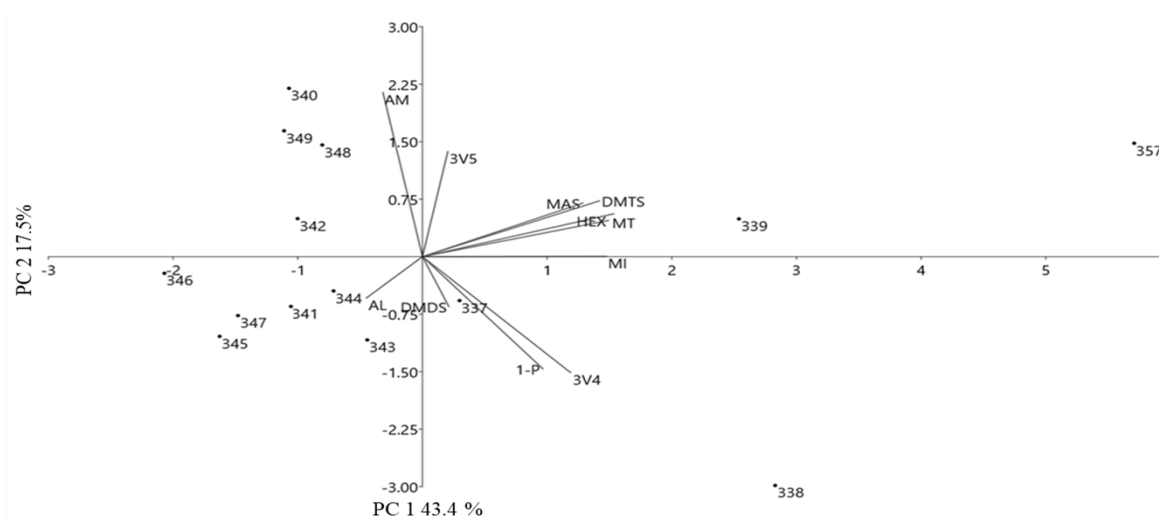
Table 1. Content of Organosulfur Volatile Compounds in Tested Garlic Accessions

Accession	AM	MT	MAS	DMDS	HEX
peak area / 10 <sup>4</sup>					
337	8.83 d <sup>1</sup>	4.37 cde	6.43 b	1.61 c	1.49 bcd
338	9.23 d	6.41 c	2.79 cd	1.12 d	1.82 b
339	15.5 bcd	9.64 b	2.46 cd	0.94 de	2.74 a
340	26.2 a	4.18 cde	2.31 cd	0.67 fg	1.5 bc
341	10.4 d	2.88 e	1.61 cd	0.56 g	1.01 de
342	14.9 bcd	3.88 cde	2.22 cd	0.82 ef	0.9 e
343	11.9 d	6.06 cd	3.16c	2.48 a	1.01 cde
344	9.76 d	4.26 cde	2.19 cd	0.45 gh	1.07 cde
345	10.8 d	4.32 cde	1.74 cd	0.68 fg	0.89 e
346	14.2 cd	3.41 de	1.17 d	0.3 h	1.01 e
347	13 cd	3.46 de	3.47 c	2.13 b	0.79 e
348	19.6 abc	4.73 cde	2.28 cd	1.43 c	0.88 e
349	20.9 ab	4.29 cde	1.69 cd	0.56 g	1.21 cde
357	13.3 cd	15.55 a	31.4 a	1.14 d	2.73 a
ANOVA	**	***	***	***	***
Accession	1-P	DMTS	MI	3V4	3V5
peak area / 10 <sup>4</sup>					
337	48.2	1.25 b	8.52 bc	14.1 bcd	0.3 a
338	234	1.13 b	10.79 ab	39.6 a	0.19 bcde
339	50.5	1.06 b	13.62 a	21.1 b	0.26 abc
340	23.5	0.7 b	7.7 cd	4.21 e	0.29 ab
341	18.5	1.09 b	6.56 cd	9.47 de	0.1 e
342	21.7	0.72 b	8.8 bc	5.75 e	0.24 abcd
343	53.9	0.59 b	7.67 cd	9.36 de	0.15 de
344	19.7	0.88 b	8.88 bc	11.1 cde	0.22 abcd
345	23.6	0.44 b	6.46 cd	8.09 de	0.11 e
346	15	0.43b	5.26 d	3.97 e	0.11 e
347	37.5	0.44 b	6.03 cd	7.14 de	0.17 cde
348	43.8	1.19 b	5.99 cd	4.47 e	0.29 ab
349	24.6	0.85 b	6.37 cd	4.33 e	0.25 abc
357	71.8	2.97 a	12.87 a	17.3 bc	0.18 cde
ANOVA	NS	**	***	***	**

(Abbreviations: allyl mercaptan (AM), methyl thiiirane (MT), methyl allyl sulphide (MAS), dimethyl disulphide (DMDS), hexanal (HEX), 1-propenyl methyl disulphide (1-P), dimethyl trisulfide (DMTS), methoxymethyl isothiocyanate (MI), 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene (3V4), 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-5-ene (3V5)).

<sup>1</sup>Different lower size letters in the same column denote significant differences between accessions determined by Fisher's LSD test at  $p \leq 0.05$

Garlic accessions are commonly evaluated for their content which is important for garlic alliaceous odour and therapeutic properties (Barboza et al., 2020). Similar to our results, Wang et al. (2014) found variability in allicin content and have clustered garlic accessions into five groups. Years of domestication, growth and adaptation to different environments also resulted in garlic variability (Hirata et al., 2015). It was found that geographical and environmental adaptation caused genetic diversity of Iranian germplasm (Shaaf et al., 2014). In a detailed review, Martins et al. (2016) have reported that pre-harvest factors including genotype, growth conditions and agricultural practices can influence the content of bioactive compounds in garlic. Sulphur supply and time of harvest influenced the alliin content in garlic bulbs known as alliin precursor (Bloem et al., 2004). Planting date impacted the alliin content of four garlic cultivars and the planting date in December showed higher amount comparing to planting date of November (Montaño et al., 2011). In this work, significant difference between accessions was found for all the investigated parameters except 1-P and pointed out a significant variability between Istrian ecotypes, whose aromatic profiles also differed from those of commercial cultivars. The observed differences most probably resulted from the effect of genotype and, at the same time, were partly a result of different environmental conditions and cultivation practices at different locations of origin.



Picture 2. Principal component analysis (PCA) with Istrian garlic ecotypes (IPT 337, IPT 338, IPT 340, IPT 341, IPT 342, IPT 343, IPT 344, IPT 345, IPT 346, IPT 347, IPT 348, IPT 349) and cultivars (IPT 339 and IPT 357) as cases and the amounts of allicin and organosulfur volatile compounds as variables, represented by the first two principal components (abbreviations: allicin (AL), allyl mercaptan (AM), methyl thiirane (MT), methyl allyl sulphide (MAS), dimethyl disulphide (DMDS), hexanal (HEX), 1-propenyl methyl disulphide (1-P), dimethyl trisulfide (DMTS), methoxymethyl isothiocyanate (MI), 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene (3V4), 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-5-ene (3V5)).

## Conclusions

The content of allicin and volatile organosulfur compounds can be used for the assessment of the diversity of garlic ecotypes. Variability found in Istrian garlic ecotypes should be preserved in germplasm collection for their use in breeding programs.

## Acknowledgement

This research has been supported by the project KK.01.1.1.01.0005 Biodiversity and Molecular Plant Breeding, Centre of Excellence for Biodiversity and Molecular Plant Breeding (CoE CroP-BioDiv), Zagreb, Croatia and by the Administrative Department for Agriculture, Forestry, Hunting and Water Management of Istria County. The work of PhD student Iva Bažon has been supported by Croatian Science Foundation ESF DOK-2018-01/1.

## References

- Baghalian K., Ziai S. A., Naghavi M. R., Badi H. N., Khalighi A. (2005). Evaluation of allicin content and botanical traits in Iranian garlic (*Allium sativum* L.) ecotypes. *Scientia Horticulturae*. 103(2): 155–166.
- Barboza K., Salinas M. C., Acuña C. V., Bannoud F., Beretta V., García-Lampasona S., Burba J.L., Galmarini C.R., Cavagnaro P. F. (2020). Assessment of genetic diversity and population structure in a garlic (*Allium sativum* L.) germplasm collection varying in bulb content of pyruvate, phenolics, and solids. *Scientia Horticulturae*. 261: 108900.
- Bažon I., Lukić I., Ban D., Horvat I., Prekalj B., Goreta Ban S. (2020). Volatile compounds of garlic cv. 'Istarski crveni' at different harvesting dates. *Journal of Central European Agriculture*. 21(2): 333-337.
- Block E., Naganatha S., Putman D., Zhao S.H. (1993). Organosulfur chemistry of garlic and onion: Recent results. *Pure and Applied Chemistry*. 65(4): 625-632.
- Bloem E., Haneklaus S., Schnug E. (2005). Influence of nitrogen and sulfur fertilization on the alliin content of onions and garlic. *Journal of Plant Nutrition*. 27(10): 1827-1839.
- Camargo A., Masuelli R. W., Burba J. L. (2005). Characterization of Argentine garlic cultivars for their allicin content. *Acta Horticulturae*. 688: 309-312.
- de Diego M., Avello M., Mennickent S., Fernández M., Fernández P. Validated liquid chromatographic method for quantitative determination of allicin in garlic powder and tablets (2007). *Journal of Separation Science*. 30: 2703-2707.
- Fernandes S., Gois A., Mendes F., Perestrelo R., Medina S., Câmara J. S. (2020). Typicality assessment of onions (*Allium cepa*) from different geographical regions based on the volatile signature and chemometric tools. *Foods*. 9(3): 375.
- González R. E., Soto V. C., Sance M. M., Camargo A. B., Galmarini C. R. (2009). Variability of solids, organosulfur compounds, pungency and health-enhancing traits in garlic (*Allium sativum* L.) cultivars belonging to different ecophysiological groups. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(21): 10282-10288.
- Hirata S., Abdelrahman M., Yamauchi N., Shigyo M. (2016). Diversity evaluation based on morphological, physiological and isozyme variation in genetic resources of garlic (*Allium sativum* L.) collected worldwide. *Genes & Genetic Systems*. The Genetics Society of Japan. 91(3): 161-173.
- Khar A., Banerjee K., Jadhav M. R., Lawande K. E. (2011). Evaluation of garlic ecotypes for allicin and other allyl thiosulphinates. *Food Chemistry*. 128(4): 988-996.
- Martins N., Petropoulos S., Ferreira I.C. (2016) Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food Chemistry*. 211: 41-50.
- Montaño A., Beato V. M., Mansilla F., Orgaz F. (2011). Effect of genetic characteristics and environmental factors on organosulfur compounds in garlic (*Allium sativum* L.) grown in Andalusia, Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59: 1301–1307.
- Prekalj B., Franić M., Ban D., Bažon I., Cvitan D., Goreta Ban S. (2019). Bulb morphological characteristics of garlic ecotypes from Istria. Objavljeno u *Proceedings from 54th Croatian & 14th International Symposium on Agriculture*, Mioč B., Širić I. (ur), 291-295. Zagreb, Croatia, University of Zagreb, Faculty of Agriculture.

- Rahman M. S. (2007). Allicin and other functional active components in garlic: Health benefits and bioavailability. *International Journal of Food Properties*. 10(2): 245–268.
- Shaaf S., Sharma R., Kilian B., Walther A., Özkan H., Karami E., Mohammadi B. (2014). Genetic structure and eco-geographical adaptation of garlic landraces (*Allium sativum* L.) in Iran. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 61(8): 1565-1580.
- Soto V. C., González R. E., Sance M. M., Galmarini C. R. (2016). Organosulfur and phenolic content of garlic (*Allium sativum* L.) and onion (*Allium cepa* L.) and its relationship with antioxidant activity. *Acta Horticulturae*. 1143: 277-290.
- Wang H., Li X., Shen D., Oiu Y., Song J. (2014). Diversity evaluation of morphological traits and allicin content in garlic (*Allium sativum* L.) from China. *Euphytica*. 198(2): 243-254.

## **Ekotipovi češnjaka iz Istre razlikuju se u sadržaju alicina i hlapivih spojeva**

### **Sažetak**

Cilj ovog istraživanja bio je ocijeniti raznolikost lokalnih ekotipova češnjaka koji se uzgajaju u Istri temeljem sadržaja alicina i specifičnih hlapivih spojeva. Uzorci su analizirani tekućinskom i plinskom kromatografijom i uspoređeni sa komercijalnim kultivarima *Ail de Piolenc* i *Music*. U primkama je utvrđen široki raspon u sadržaju alicina i specifičnih hlapivih spojeva. Dvije prve glavne komponente objasnile su 60,95% od ukupne varijance i ukazuju na razliku među istarskim ekotipovima te također između ekotipova i komercijalnih kultivara. Utvrđena varijabilnost predstavlja važan izvor svojstava za oplemenjivačke programe.

**Ključne riječi:** primke, aromatski profil, oplemenjivanje, raznolikost, okolinski uvjeti



## Inventarizacija i potencijalna uporabna vrijednost invazivne flore na području grada Velike Gorice

Dubravka Dujmović Purgar, Valentina Maršić, Vesna Židovec, Sandro Bogdanović, Ksenija Karlović, Zlatko Svečnjak

Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska  
(dpurgar@agr.hr)

### Sažetak

Invazivne vrste u urbanim sredinama stvaraju mnogobrojne direktne i indirektne štete. Invazivna flora do sada nije sustavno istraživana na području Hrvatske, pa tako ni na području grada Velike Gorice. Terenskim istraživanjem zabilježena je i fotodokumentirana invazivna flora na području grada Velike Gorice i njene okolice. Utvrđena je prisutnost 18 invazivnih vrsta unutar 14 porodica; najbrojnija vrsta je *Erigeron annuus* (L.) Pers., a najbrojnija porodica Asteraceae. Inventarizirane vrste na istraživanom području imaju potencijalnu primjenu u prehrambene, ljekovite, medonosne i ukrasne svrhe, ali i kao hrana za životinje. Svojstvo alelopatije zabilježeno je kod dvije inventarizirane vrste.

**Ključne riječi:** hrana, ljekovite vrste, medonosne vrste, ukrasne vrste, krma

### Uvod

U Hrvatskoj je osim velikog bogatstva autohtonih biljnih vrsta, uočena i izrazita rasprostranjenost alohtone vegetacije. Prema najnovijim podacima u hrvatskoj flori danas ima 77 invazivnih biljnih svojiti (Nikolić, 2020.). Invazivne biljne vrste su strane vrste koje imaju izrazitu sposobnost razmnožavanja te brzog i lakog širenja izvan područja na koja su namjerno ili nenamjerno unesene. Za unos invazivne flore u Europu je značajniji namjerni unos koji čini 63 % ukupnog unosa vrsta (Pyšek i sur., 2009.).

Urbana područja predstavljaju spoj velike gustoće ljudske populacije i bioraznolikosti pa su iz tog razloga i najizloženija prodoru invazivnih vrsta (Pyšek, 1998.). Invazivne vrste u urbanim sredinama stvaraju mnogobrojne direktne i indirektne štete, stoga se inventarizaciji invazivnih biljnih vrsta urbanih područja posvećuje sve više pažnje. Osim u sklopu sveobuhvatnijih florističkih istraživanja pojedinih gradova i nekih manjih lokalnih područja, javlja se problem neprovođenja sustavne inventarizacije invazivne flore urbanih sredina u Hrvatskoj.

Velika Gorica je najveći grad Zagrebačke županije koji se smjestio na raskrižju između glavnog grada Zagreba i grada Siska. Kao jedan od izraženijih putova širenja invazivnih biljnih vrsta ističe se prisutnost zagrebačke obilaznice, željezničke pruge, te zračne luke. Prije samog ulaza u grad nalaze se brojne poljoprivredne površine na kojima se velik broj invazivnih biljnih vrsta pojavljuje kao korovi u usjevima. Mnoge poljoprivredne površine zarastaju što također stvara vrlo pogodne uvjete za naturalizaciju i širenje ruderalnih invazivnih biljnih vrsta. Također je uočena prisutnost velikog broja nepropisnih odlagališta otpada uz koja su inventarizirane neke od zabilježenih invazivnih biljnih vrsta.

Cilj rada je inventarizirati i analizirati invazivnu floru na području grada Velike Gorice u kojemu se nalaze brojni potencijalni indikatori prisutnosti invazivnih vrsta i njihovog širenja na susjedna područja te odrediti uporabnu vrijednost istraživanih vrsta.

## Materijal i metode

Istraživanje invazivne flore na području grada Velike Gorice provedeno je tijekom 2019. i 2020. godine. Zabilježene invazivne vrste determinirane su (Nikolić i sur., 2014., Nikolić, 2020.), te fotodokumentirane ili herbarizirane. Njihova nomenklatura usklađena je s Flora Croatica bazom podataka (Nikolić, 2020.).

Popis invazivnih biljnih vrsta nalazi se u tablici gdje se za svaku vrstu navodi njen životni oblik (H – Hemikryptophyta, T – Therophyta, G – Geophyta, P – Phanerophyta), trajanje života (j - jednogodišnje vrste, z. traj - zeljaste trajnice, d. traj - drvenaste trajnice), florni element (Sj. Am. - Sjeverna Amerika, J. Am. – Južna Amerika, Az. - Azija, Af. - Afrika), vrijeme cvatnje, kategorija uporabne vrijednosti, te broj lokacija na kojima su navedene invazivne biljne vrste uočene. Životni oblici, trajanje života, te florni elementi određeni su prema FCD (Nikolić, 2020.) i Boršić i sur. (2008.). Kod kategorije uporabne vrijednosti razlikujemo biljne vrste koje se upotrebljavaju za prehranu ljudi, u ljekovite svrhe, kao medonosno, ukrasno i krmno bilje te imaju primjenu u industrijskoj proizvodnji. Isto tako, ovisno o dostupnosti informacija, zabilježen je alelopatski učinak inventariziranih vrsta koji može biti pozitivan ili negativan. Uporabna vrijednost zabilježenih vrsta analizirana je na temelju literaturnih podataka (Biličić, 2014., Bučar, 2008., Flegar i Novak, 2005., Grdinić i Kremer, 2009., Hulina, 2011., Kovačić i sur., 2008., Nikolić i sur., 2014., Šimić 1980.) i običaja istraživanog kraja.

## Rezultati i rasprava

Terenskim istraživanjima prikupljeni su podaci o prisutnosti invazivnih vrsta u flori Velike Gorice (Tablica 1). Inventarizacijom invazivne flore zabilježeno je 18 invazivnih biljnih vrsta. Kao najzastupljenija porodica na istraživanom području zabilježena je porodica Asteraceae (17 %), što je u skladu s dokumentiranim podacima o zastupljenosti glavočika u hrvatskoj flori te je ujedno i odraz ekoloških i bioloških karakteristika ove porodice (primjerice građe cvjetova, cvatova i plodova, brojnosti sjemena, trajanja cvatnje, itd.) koje olakšavaju njeno širenje.

Najzastupljenija vrsta je *Erigeron annuus* (L.) Pers. sa 16 nalaza. Ova vrsta namjerno je unesena u Europu iz Amerike kao jedna od ukrasnih biljaka u vrtovima. Jak je kompetitor sa samoniklim vrstama i gotovo ju je nemoguće iskorijeniti (Nikolić i sur., 2014.). Vrste *Veronica persica* Poir. i *Ambrosia artemisiifolia* L. su sljedile po zastupljenosti s 15 zabilježenih nalaza. Široka rasprostranjenost ambrozije na istraživanom području trebala bi biti zabrinjavajuća s obzirom da njena peludna zrnca predstavljaju najjače poznate alergene. Osim toga ambrozija potiskuje zavičajnu floru ruderalnih staništa i okopavina te uzrokuje znatne gospodarske gubitke (Nikolić i sur. 2014.).

Najveći broj zabilježenih invazivnih vrsta Velike Gorice pripada terofitima (šest vrsta), slijede ih hemikriptofiti (pet vrsta), fanerofiti, te geofiti. Veliki udio terofita je očekivan budući da su to jednogodišnje biljke sa kratkim životnim ciklusima koje produciraju puno, lako rasprostranjivog sjemena što ih čini uspješnim invazivnim biljkama (Zagorac, 2016.). Analizom trajanja života zabilježenih invazivnih biljnih vrsta utvrđeno je da su u najvećem broju zastupljene zeljaste trajnice (njih sedam), slijedi šest jednogodišnjih vrsta, te pet drvenastih trajnica. Fitogeografska analiza je pokazala da je najviše zabilježenih invazivnih vrsta Velike Gorice porijeklom iz Sjeverne Amerike, a slijede vrste porijeklom iz Azije i Afrike. Rezultati su u skladu s podacima o porijeklu invazivnih vrsta u Hrvatskoj flori (Nikolić i sur., 2014.).

Što se tiče perioda cvatnje, analiza je pokazala da cvatnja invazivnih vrsta inventariziranih na području Velike Gorice počinje krajem proljeća i traje sve do kasne jeseni, no najveći broj vrsta cvate u ljetnim mjesecima (u lipnju, srpnju i kolovozu).

Analiza uporabne vrijednost invazivnih biljnih vrsta zabilježenih na području grada Velike Gorice ukazuje da se vrste mogu upotrebljavati najviše kao ljekovite i ukrasne (12 vrsta, 67 % vrsta). Samonikle biljke se od davnina koriste u izradi raznih čajeva, tinktura i prašaka u narodnoj medicini, ali i u farmaceutskoj industriji. Danas se i invazivne vrste koriste za istu namjenu. Mnoge invazivne biljne vrste imaju izrazitu dekorativnu vrijednost zbog privlačnog izgleda (boje i teksture cvjetova, listova, plodova i kore, zanimljivog habitusa) pa su često prisutne u vrtovima i parkovima. Više od polovice inventariziranih vrsta (njih 56 %) koriste se kao medonosne. U prehrani, za pripremu različitih jela i pića, koristi se 39 % vrsta (njih sedam). Slijedi upotreba u raznim industrijama (28 % vrsta) poput drvne, tekstilne, kemijske i kozmetičke. Četiri vrste (22 % vrsta) koriste se kao krma. Svojstvo alelopatije je prema dostupnim informacijama zabilježeno za samo dvije inventarizirane vrste: *Abutilon theophrasti* Medik. i *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle.

Tablica 1. Invazivna flora grada Velike Gorice

BR.	SVOJTA	Životni oblik	Trajanje života	Florni elementi	VRJEME CVATNJE	UPORABA							Broj nalaza
						prehrana	ljekovitost	medonosne	ukrasne	krma	industrija	alelopatija	
1.	<i>Abutilon theophrasti</i> Medik.	T	j	Az.	7-8	+	+		+	+	+	9	
2.	<i>Acer negundo</i> L.	P	d.traj	Sj. Am.	4-5			+	+		+	5	
3.	<i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	P	d.traj	Az.	7-8			+	+		+	7	
4.	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	T	j	Sj. Am.	6-10	+	+			+	+	8	
5.	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	T	j	Sj. Am.	8-10	+	+					15	
6.	<i>Amorpha fruticosa</i> L.	P	d.traj	Sj. Am.				+	+	+		3	
7.	<i>Asclepias syriaca</i> L.	H	z.traj	Sj. Am.	6-8	+	+	+	+		+	8	
8.	<i>Duchesnea indica</i> (Andrews) Focke	H	z.traj	Az.	4-6		+		+			3	
9.	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn.	T	j	Af.	7-8					+	+	6	
10.	<i>Erigeron annuus</i> (L.) Pers.	H	z.traj	Sj. Am.	6-9		+	+	+			16	
11.	<i>Lepidium viriginicum</i> L.	T	j	Sj. i J.Am	5-7		+					5	
12.	<i>Oenothera biennis</i> L.	H	z.traj	Sj. Am.	6-8	+	+		+			3	



- Nikolić T. ur. (2020). Flora Croatica baza podataka (<http://hirc.botanic.hr/fcd>). Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
- Pyšek P. (1998). Alien and native species in Central European urban floras: a quantitative comparison. *Journal of Biogeography* 25: 155-163.
- Pyšek P., Lambdon P., Arianoutsou M., Kühn I., Pino J., Winter M. (2009). Alien Vascular Plants of Europe U: DAISIE (UR.) Handbook of Alien Species in Europe. Springer Science + Business Media.
- Šimić F. (1980). Naše medonosno bilje. Znanje, Zagreb.
- Zagorac D. (2016). Inventarizacija i kartiranje invazivne flore područja Ščitarjeva. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet. Zagreb.

## **Inventory of invasive flora of the city of Velika Gorica and its potential use value**

### **Abstract**

Invasive species create numerous direct and indirect damages in urban areas. In Croatia, invasive flora has not been systematically analyzed on national or local level, including the city of Velika Gorica. In the field research, inventory and photo-documentation of invasive flora was performed in the city of Velika Gorica and its surroundings.

The presence of 18 invasive species belonging to 14 families was determined; *Erigeron annuus* (L.) Pers. and Asteraceae proved to be the dominant species and family, respectively. Recorded invasive species could potentially be used as food, medicinal, melliferous, ornamental and fodder plants. Allelopathic property was recorded for two inventoried species.

**Key words:** food, medicinal species, melliferous species, ornamental species, fodder

## Određivanje minimalne inhibitorne koncentracije borne kiseline u suzbijanju fitopatogene bakterije *Pseudomonas tomato*

Katarina Martinko<sup>1</sup>, Petra Tolvajčić<sup>2</sup>, Edyta Đermić<sup>1</sup>, Damir Đermić<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska, (kmartinko@agr.hr)

<sup>2</sup> studentica na studiju Zaštita bilja, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

<sup>3</sup> Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Mnoge fitopatogene bakterije razvile su rezistentnost na sredstva namijenjena njihovom suzbijanju. Rajčica je jedna od najčešće konzumiranih povrtnarskih kultura, čija je proizvodnja otežana velikim gubicima uzrokovanih fitopatogenom bakterijom *Pseudomonas tomato*. Zbog rastućeg problema suzbijanja fitobakterija, cilj je odrediti minimalnu inhibitornu koncentraciju (MIC) medicinski značajne borne kiseline (BA) na bakteriju *P. tomato*. Rezultati ovog istraživanja *in vitro* pokazuju da BA ima značajan baktericidni učinak na bakteriju pri niskim koncentracijama, uz MIC od 0,3 %, što omogućuje razmatranje BA kao potencijalnog sredstva za suzbijanje ove fitopatogene bakterije.

**Ključne riječi:** baktericidni učinak, borna kiselina, MIC, *Pseudomonas tomato*, rezistentnost

### Uvod

Suvremeni problem suzbijanja fitopatogena očituje se u sposobnosti navedenih mikroorganizama da razviju rezistentnost na pripravke namijenjene njihovom suzbijanju. Zbog takve adaptivne sposobnosti, fitopatogeni mikroorganizmi predstavljaju prijetnju globalnoj proizvodnji hrane (Martins i sur., 2018.). Učestala primjena agrokemikalija posljedica je razvitka rezistentnosti fitopatogena na sredstva za zaštitu bilja i antibiotike (Butsenko i sur., 2020., Curutiu i sur. 2017.) što dovodi do negativnog ekonomskog i ekološkog utjecaja na poljoprivredu (Martins i sur., 2018.). Nekoliko bakterijskih fitopatogena, među kojima je i *Pseudomonas tomato* (Okabe) Young, Dye i Wilkie, razvilo je rezistentnost na bakarne spojeve (La Torre i sur., 2018.). Kako je upotreba bakarnih pripravaka ograničena (Uredba Komisije 473/2002 prema La Torre i sur., 2018.), a antibiotici u biljnoj proizvodnji zabranjeni (FIS, 2020), problem suzbijanja fitopatogenih bakterija postaje sve veći.

Fitopatogena bakterija *Pseudomonas tomato* uzročnik je bakteriozne pjegavosti rajčice (*Solanum lycopersicum* L.) uz simptome kao što su razvitak lezija na listovima, stabljici i plodovima (Goode i Sasser, 1980., Uppalapati i sur., 2008.). Kako je rajčica jedna od povrtnih kultura koja se najčešće proizvodi i konzumira (Zorzoli i sur., 2007.), proizvodnja ove kulture je otežana uslijed velikih ekonomskih gubitaka uzrokovanih vrstom *P. tomato* (Zhao i sur., 2000., Stamova, 2009., Mansfield i sur., 2012., La Torre i sur., 2018.).

Suzbijanje bakteriozne pjegavosti izazov je pri komercijalnoj proizvodnji rajčice zbog ograničene učinkovitosti raspoloživih metoda suzbijanja uzročnika fitobakterioza. Nedostatak učinkovitih baktericida za suzbijanje folijarnih bakterioza rajčice, potaknuo je interes za razvoj novih, alternativnih metoda suzbijanja (Louws i sur., 2001.).

Nedavna istraživanja sugeriraju da su pojedine kiseline iz skupine boronskih kiselina (eng. *boronic acids*), osobito borna kiselina (eng. *boric acid*, BA), vrlo korisne u suzbijanju širokog spektra medicinski značajnih bakterija (Lee i sur, 2020.), zbog čega se spominju kao „novi antibiotici“ u medicini (Barquero, 2013), koji nisu toksični za okoliš (Hall, 2019.). Novije istraživanje potvrđuje antibakterijski učinak spojeva iz skupine boronskih kiselina na odabrane sojeve bakterija od kliničkog i veterinarskog značaja, među kojima i pojedini pripadnici roda *Pseudomonas* (Peppoloni i sur., 2020.). Sve veći interes za istraživanje učinka boronskih kiselina povezan je s primjenama ovih kiselina u obliku biološki aktivnih spojeva koji suprimiraju širok spektar medicinski značajnih gljiva i bakterija (Adamczyk-Woźniak i sur., 2012.). Temeljem medicinskog značaja boronskih kiselina kao inhibitora patogenih bakterija, cilj ovog rada je odrediti minimalnu inhibitornu koncentraciju (MIC) BA u smislu baktericidnog učinka na *P. tomato* u *in vitro* uvjetima. U istraživanje se ulazi s pretpostavkom kako će BA u niskim koncentracijama inhibirati rast patogene fitobakterije *P. tomato*.

## Materijal i metode

### Izolat fitopatogene bakterije *P. tomato*

U ovom radu, korišten je izolat fitopatogene bakterije *P. tomato* izoliran s rajčice (*S. lycopersicum* cv. Rutgers) sa simptomima bakteriozne pjegavosti. U svrhu stimulacije rasta patogena, zaraženi biljni materijal inkubiran je na hranjivoj podlozi King B (Sigma-Aldrich, SAD) u klima komori na 28 °C u trajanju od 72 sata. Dobivena čista kultura izolirane fitopatogene bakterije determinirana je morfološki i molekularno primjenom tehnike PCR do razine vrste. Izolat je pohranjen u zbirci Zavoda za fitopatologiju Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta na hranjivoj podlozi King B na 4 °C i u glicerolu na -20 °C.

### Priprema raspona koncentracija BA

U radu je korištena borna kiselina (BA) (Sigma-Aldrich, SAD) u širokom rasponu koncentracija (0,04 %, 0,05 %, 0,06 %, 0,07 %, 0,08 %, 0,09 %, 0,1 %, 0,2 % i 0,3 %). U 50 ml sterilne destilirane vode otopljeno je 0,5 mg BA kako bi se dobila otopina 1 % BA. Temeljem faktora razrijeđenja, pripremljena otopina 1 % BA pipetirana je u određenom volumenu u 50 ml tekuće hranjive podloge King B dostatne za ravnomjerno izlijevanje jedne varijante hranjive podloge, ukupno u 3 repeticije.

### Određivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) BA za *P. tomato*

Kako bi se odredila minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) BA koja ima baktericidni učinak na *P. tomato*, korištena je metoda *Poison Food Technique* prema modificiranoj *in vitro* metodi Qadoos i sur. (2016.). Tekući agar s određenom koncentracijom BA izliven je u 3 repeticije, za svaku koncentraciju pojedinačno. Na površinu ohlađenog agara, pipetirano je 100 µL serijski razrijeđene suspenzije bakterijskih stanica *P. tomato* ( $5,6 \times 10^6$  CFU/ml) i ravnomjerno raspoređeno staklenim etalerom. Kontrolne petrijevke su umjesto bakterijske suspenzije sadržavale 100 µL sterilne destilirane vode. Petrijevke su inkubirane u klima komori 72 sata na 28 °C kako bi se kolonije *P. tomato* razvile u svrhu kvantificiranja baktericidnog učinka BA primijenjene u određenoj koncentraciji.

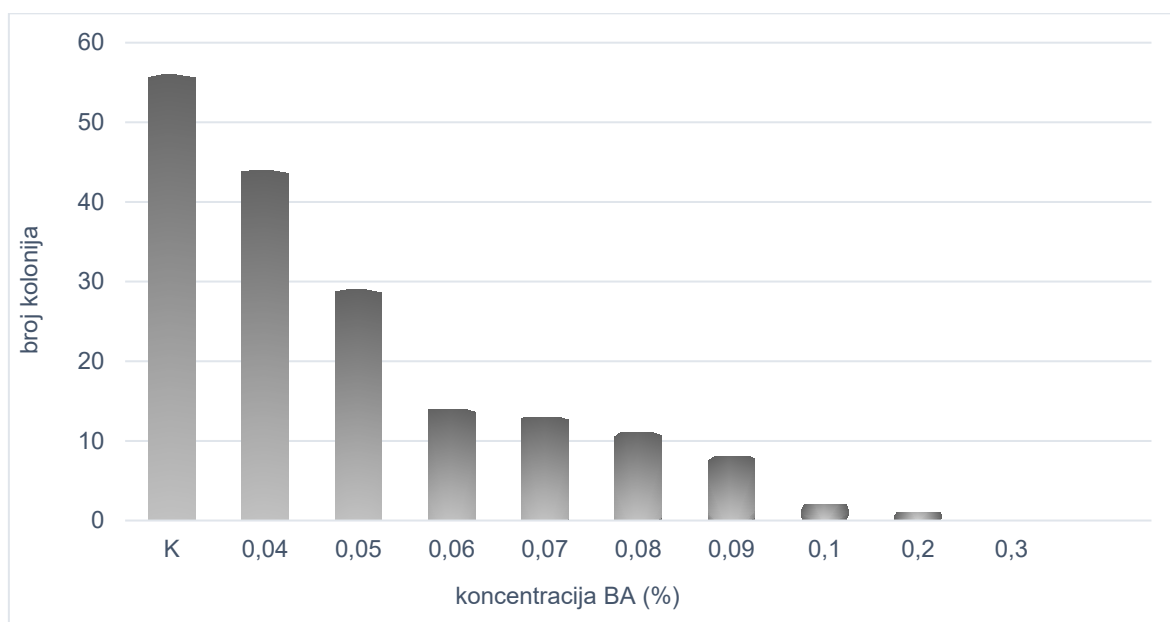
### Očitavanja rezultata *in vitro* pokusa

Očitavanja rezultata provela su se u trećem danu inkubacije. Izrasle kolonije bakterije *P. tomato* u petrijevcu fotografirane su, a dobivene fotografije obrađene su kompjutorskim

programom *ImageJ* prema Guzmán i sur. (2014.). Rast fitopatogene bakterije na hranjivoj podlozi s definiranom koncentracijom BA, kvantificiran je brojanjem izraslih kolonija fitopatogene bakterije *P. tomato* te izračunavanjem srednje vrijednosti iz triju repeticija.

## Rezultati i rasprava

Rezultati baktericidnog učinka BA na broj kolonija bakterije *P. tomato* usporedno s kontrolnom varijantom prikazan je grafički (Grafikon 1). Rast patogena nije zabilježen na hranjivoj podlozi s BA u koncentraciji od 0,3% tj. na navedenoj hranjivoj podlozi nije uočena niti jedna kolonija patogena. Broj naraslih kolonija bakterije *P. tomato* u odnosu na kontrolu bio je manji pri nižim koncentracijama primijenjene BA. Na hranjivoj podlozi s 0,04 % BA, broj kolonija *P. tomato* smanjen je za 22 % u odnosu na kontrolu, na 0,05 % BA za 49 %, a na agaru s 0,06 %, 0,07 % i 0,08 % BA broj kolonija je reduciran za 75 %, 77 % i 80 %. U petrijevkama u kojoj je hranjiva podloga sadržavala 0,09 % BA, broj kolonija u odnosu na kontrolnu varijantu reduciran je za 86 %, dok je hranjiva podloga s 0,1 % i 0,2 % inhibirala rast fitobakterije *P. tomato* za 96 % i 98 %. Povećanje koncentracije BA, proporcionalno je smanjenju broja kolonija na korištenoj hranjivoj podlozi.



**Grafikon 1.** Učinak borne kiseline (BA) na broj kolonija fitopatogene bakterijske vrste *Pseudomonas tomato* nakon inkubacije u trajanju od 72 sata.

U istraživanju Yilmaza (2012.) navodi se da MIC BA od 0,76 % ima bakteriostatski učinak na medicinski značajnu vrstu *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter 1872) Migula 1900. U istraživanju Sayin i sur. (2016.) MIC BA iznosila je između 0,077 % i 0,155 % što sugerira da različiti mediji i primijenjene koncentracije BA mogu biti razlog za takve varijacije MIC-a, kao što su primijetili i Caroline i Campbell (1990.). Također, različite vrste unutar roda *Pseudomonas* mogu biti različito osjetljive na BA.

U našem istraživanju, MIC BA koja ima baktericidni učinak na fitopatogenu vrstu *P. tomato* primijenjene u obliku suspenzije ( $5,6 \times 10^6$  CFU/ml) iznosi 0,3 %. Ovim *in vitro* pokusom, BA je pokazala izvrstan inhibitorni učinak na bakteriju *P. tomato* temeljem smanjenja broja kolonija fitopatogene vrste u relativno niskoj koncentraciji ovog spoja koji nije toksičan za okoliš.



## Zaključak

Suzbijanje bakterijske pjegavosti izazov je pri komercijalnoj proizvodnji rajčice radi ograničene učinkovitosti trenutnih metoda suzbijanja bakterijskih fitopatogena zbog razvijanja rezistentnosti na postojeća sredstva namijenjena njihovom suzbijanju. Nedostatak učinkovitih baktericida za suzbijanje folijarnih bakterioza rajčice potaknuo je interes u razvoju novih alternativnih metoda. Temeljem značajnog učinka na medicinski važnu vrstu *P. aeruginosa*, u *in vitro* uvjetima testiran je baktericidni učinak BA na fitopatogenu bakterijsku vrstu *P. tomato*. Ovim radom potvrđena je baktericidna učinkovitost BA na ekonomski značajnu bakteriju, a minimalna inhibitorna koncentracija je iznosila 0.3%. Dobiveni rezultati istraživanja sugeriraju potencijal istraživanja BA u *in vitro* uvjetima kao mogućeg novog sredstva u suzbijanju bakterije *P. tomato*, uzročnika bakterijske pjegavosti rajčice. Idući korak u istraživanju trebalo bi biti testiranje učinka BA u *in vivo* uvjetima.

## Literatura

- Adamczyk-Woźniak A., Komarowska-Porokhnyavets O., Misterkiewicz B., Novikov V.P., Sporzyński A. (2012). Biological activity of selected boronic acids and their derivatives. *Applied Organometallic Chemistry* 26(7): 390–393.
- Barquero, Juan F. (2013). "Boronic Acids as Penicillinase Inhibitors" CUNY Academic Works. Raspoloživo: [https://academicworks.cuny.edu/gc\\_etds/1798](https://academicworks.cuny.edu/gc_etds/1798).
- Butsenko L., Pasichnyk L., Kolomiets Y., Kalinichenko A. (2020). The Effect of Pesticides on the Tomato Bacterial Speck Disease Pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *Applied Sciences* 10(9): 3263.
- Caroline P, Campbell R (1990). Strategies of microbial cell survival in contact lens cases. *Contact Lens Forum* 15:27–36.
- Curutiu C., Lazar V., Chifiriuc M. (2017). Pesticides and antimicrobial resistance: From environmental compartments to animal and human infections. In *New Pesticides and Soil Sensors*; Grumezescu. A.M., Ed.; Academic Press: Bucharest, Romania; pp. 373–392.
- Fitosanitarni informacijski sustav, FIS (2020). Raspoloživo: <https://fis.mps.hr/trazilicaszb/>.
- Goode M.J. i Sasser M. (1980). Prevention—The key to controlling bacterial spot and bacterial speck of tomato. *Plant Dis* 64: 831–834.
- Guzmán C., Bagga M., Kaur A., Westermarck J., Abankwa D. (2014). ColonyArea: An ImageJ Plugin to Automatically Quantify Colony Formation in Clonogenic Assays. *PLoS ONE* 9(3), e92444.
- Hall D.G. (2019). Boronic acid catalysis. *Chemical Society Reviews*.
- La Torre A., Iovino V., Caradonia F. (2018). Copper in plant protection: current situation and prospects. Vol. 57 No. 2.
- Lee E., Li X., Oh J., Kwon N., Kim G., Kim D., Yoon J. (2020). A boronic acid-functionalized phthalocyanine with an aggregation-enhanced photodynamic effect for combating antibiotic-resistant bacteria. *Chemical Science*.
- Louws F.J., Wilson M., Campbell H.L., Cuppels D.A., Jones J.B., Shoemaker P.B., Sahin F., Miller S.A. (2001). Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator in plants. Klumer, Dordrecht, the Netherlands. Hatcher, P.E., N.D. Paul, P.G. *Plant Dis* 85: 481–488.
- Mansfield J., Genin S., Magori S., Citovsky V., Sriariyanum M., Ronald P., Dow M., Verdier V., Beer S.V., Machado M.A., Toth I., Salmond G., Foster G.D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13: 614–629.
- Martins P.M.M., Merfa M.V., Takita M.A., De Souza A.A. (2018). Persistence in Phytopathogenic Bacteria: Do We Know Enough? *Front Microbiol.* 9.
- Peppoloni S., Pericolini E., Colombari B., Pinetti D., Cermelli C., Fini F., Blasi E. (2020). The  $\beta$ -Lactamase Inhibitor Boronic Acid Derivative SM23 as a New Anti-*Pseudomonas aeruginosa* Biofilm. *Frontiers in Microbiology* 11. DOI:10.3389/fmicb.2020.00035
- Sayin, Z., Ucan, U.S. Sakmanoglu, A. (2016) Antibacterial and Antibiofilm Effects of Boron on Different Bacteria. *Biol Trace Elem Res* 173: 241–246.

- Stamova L. (2009). Resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* race 1. Acta horticulturae, (808), 219–222. DOI: 10.17660/actahortic.2009.808.33
- Uppalapati S. R., Ishiga Y., Wangdi T., Urbanczyk-Wochniak E., Ishiga T., Mysore K.S., Bender C. L. (2008). Pathogenicity of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* on Tomato Seedlings: Phenotypic and Gene Expression Analyses of the Virulence Function of Coronatine. Molecular Plant-Microbe Interactions 21(4): 383–395.
- Zhao Y., Damicone J.P., Demezas D.H., Rangaswamy V., Bender C.L. (2000). Bacterial leaf spot of leafy crucifers in Oklahoma caused by *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*. Plant Disease 84, 1015–1020.
- Zorzoli R., Pratta G.R., Rodríguez G.R., Picardi L.A. (2007). Advances in biotechnology: tomato as a plant model system. Functional Plant Science and Biotechnology 1(1): 146-159.
- Qadoos M., Kahn M. I, Suleman M., Khan H., Aqeel M. i Rafiq M. (2016). Comparison of poison food technique and drench method for In Vitro control of *Alternaria* Sp, the cause of leaf spot of bitter gourd, Journal of Agricultural Science and Soil Sciences 4(9): 126-130.
- Yilmaz MT. (2012) Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of boron compounds against several bacterial strains. Turk J Med Sci 42: 1423–1429.

## Determination of minimum inhibitory concentration of boric acid on phytopathogenic bacterium *Pseudomonas tomato*

### Abstract

Many phytopathogenic bacteria have developed resistance to agents intended to control them. Tomato is one of the most frequently consumed vegetable crops, which production is hampered by large economic losses caused by bacterium *Pseudomonas tomato*. Due to the growing problem of controlling phyto-bacteria, the aim is to reveal the minimum inhibitory concentration (MIC) of medically important boric acid (BA) on this plant pathogenic bacterium. The results show that BA had a significant bactericidal effect on bacterium *P. tomato* in low concentration with MIC being 0,3 %. Our results suggest that BA can be used for inhibition of *P. tomato* growth *in vitro* and they allow consideration of BA as a potential agent to control this phytopathogenic bacterium.

**Key words:** bactericidal effect, boric acid, MIC, *Pseudomonas tomato*, resistance

## Effect of processing technology in olive oil quality parameters

Anisa Peçuli<sup>1</sup>, Anila Kopali<sup>1</sup>, Onejda Kyçyk<sup>2</sup>, Nertil Xhaferaj<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agricultural University of Tirana, Faculty Biotechnology and Food, Department of Agro-Food Technology, Street 'Paisi Vodica', Koder-Kamez, 1029 Tirana, Albania (apeculi@ubt.edu.al)*

<sup>2</sup>*Agricultural University of Tirana, Faculty Biotechnology and Food, Food research Centre, Street Bedri Karapici, Tirana Albani*

### Abstract

Olive oil production is one of the most important agricultural activities in Albania. The processing of olive oil in Albania is usually carried out using the centrifugal three-phase or centrifugal two-phase extraction systems. The quality and formulations of olive oil and the byproducts differ according to the basic characteristics of the extraction equipment used, the variety of olives, the season and maturity of the fruit. The aim of the study was comparison of olive oil quality parameters produced with two and three phase centrifugal extraction systems within the focus on phenolic content, as compounds with health benefits due to their antioxidant properties. Olive oil samples from Kalinjot variety in three different maturity indexes (MI1; MI3-4; MI5-6) were taken under the study. The olive oil was produced from two and three-phase centrifugal extraction systems (2Ph and 3Ph). All samples (six in total) had a free acidity expressed as oleic acid below 1 g/100 g showing the samples are categorized as extra virgin olive oil, with the exception of olive oil with IM 3-4 and three-phase extraction which had a free acidity of 1.07 g/100 g. For MI 1 and MI 3-4 was observed that the olive oil produced with three-phase extraction gives a slightly increase in free acidity, but not for MI5-6. Peroxide index as another quality parameter ranged from  $6.6 \pm 0.18$  to  $11.4 \pm 0.2$  meq O<sub>2</sub>/Kg ( $\leq 20$  meq O<sub>2</sub>/Kg) and slightly differences were noticed between different extraction systems. The polyphenolic content ranged from  $330.99 \pm 59.8$  to  $571.68 \pm 35.1$  mg/kg olive oil. The lower value corresponds to the MI1 and the highest one to the MI5-6.

**Key words:** olive oil, extraction systems, maturity index, peroxide index, polyphenols.

### Introduction

As part of Mediterranean countries, Albania have favourable climatic condition for Olive trees cultivation, and the archaeological data shows an early cultivation of olives in Albanian ancient civilisation (Gixhari et al., 2014). Olive oil production as well, has been developed during the years and now is one of the most profitable economical agricultural activity in Albania (Mane-Kapaj et al., 2010). But in way to help this industry to be comparable with other neighbour countries is necessary to improve the quality of the product through governmental implementation of the Good Agriculture Practices, by supporting cultivation of autochthonous cultivars and by supporting the manufacturers with the latest processing technology (Topi et al., 2012).

The quality and formulations of olive oil and the by-products differ according to the basic characteristics of the extraction equipment used, the variety of olives, the season and maturity of the fruit. The most important step, separation of the liquid phase and solid particles from the olive paste is usually performed using two major systems, i.e. pressure or centrifugation (Amirante et al., 2010, Vossen, 2002). The olive oil production technology in

Albania is based mostly on continuous lines which use the centrifugal force for phase separation. So far, two centrifugal systems, 2-phase and the 3-phase decanter are used.

The aim of the study was comparison of olive oil quality parameters produced with two and three phase centrifugal extraction systems within the focus on phenolic content, as compounds with health benefits due to their antioxidant properties.

## Material and methods

To carry out this study, olive fruits of the Kalinjot variety from Berat area were used. The oil extraction was carried out in two processing plants; a three-phase processing line and another that processes the olive with a two-phase line. Olive oil samples were taken directly from the vertical centrifuge and sent directly to the laboratory of the Food Research Center for further analysis. Oil samples were marked, filtered, and stored at -15 °C.

### Physical-chemical parameters

Free acidity, specific absorbance at 232 and 270 nm ( $K_{232}$  and  $K_{270}$ ) and the peroxide index were determined according to the official methods described in European Regulation EC 2568/91 and amendments (CCE, 1991).

### Chlorophylls and carotenoids contents

These pigments were determined according to procedures described by (Isabel Minguez-Mosquera et al., 1991). The chlorophyll fraction was measured via UV spectrophotometer (Libra S22 Biocrom) at (630, 670, and 710 nm) and the carotenoids fraction at 470 nm and are expressed as  $\text{mg kg}^{-1}$ .

### Total phenol content

Polyphenols content were analyzed as described by Salvador (Salvador et al., 1998) using the Folin–Ciocalteu reagent and absorbance measurement at 725nm, the results were expressed as gallic acid equivalent ( $\text{mg kg}^{-1}$  olive oil), calculated from the following calibration curve, determined by linear regression.

### Statistical analysis

Data were analysed using the MANOVA option with SPSS software (IBM SPSS Statistics V25.0). All data are expressed as means  $\pm$  SD of the triplicate. Means were separated using Tukey B test and considered significant at  $P < 0.05$ .

## Results and discussion

Results of physical chemical quality parameters are shown in Figure 1. Free acids in olive oil are very important as they affect the classification of olive oil. As shown in the graph the values for free acidity ranged from  $0.24 \pm 0.035$  to  $1.07 \pm 0.055$   $\text{gr}/100\text{gr}$  with the yellow line representing the limit set by European Commission Regulation EEC/2568/91 (CEE, 2015) for this parameter to classify the olive oils as Extra Virgin Olive Oil. The absorption within these wavelengths at 232nm and 270nm are very important indicators related to the formation of conjugated dienes and triins during storage or during extraction known as well as oxidation indices (Mancebo-Campos et al., 2008). The  $K_{232}$  values ranged from  $1.57 \pm 0.005$  to  $1.84 \pm 0.023$  and  $K_{270}$  ranged from  $0.017 \pm 0.005$  to  $1.14 \pm 0.01$ . With the results obtained: free acidity  $< 1\text{gr}/100$  gr,  $K_{232} < 2.5$  and  $K_{270} < 0.22$ , this samples can be classify as Extra Virgin Olive Oil.

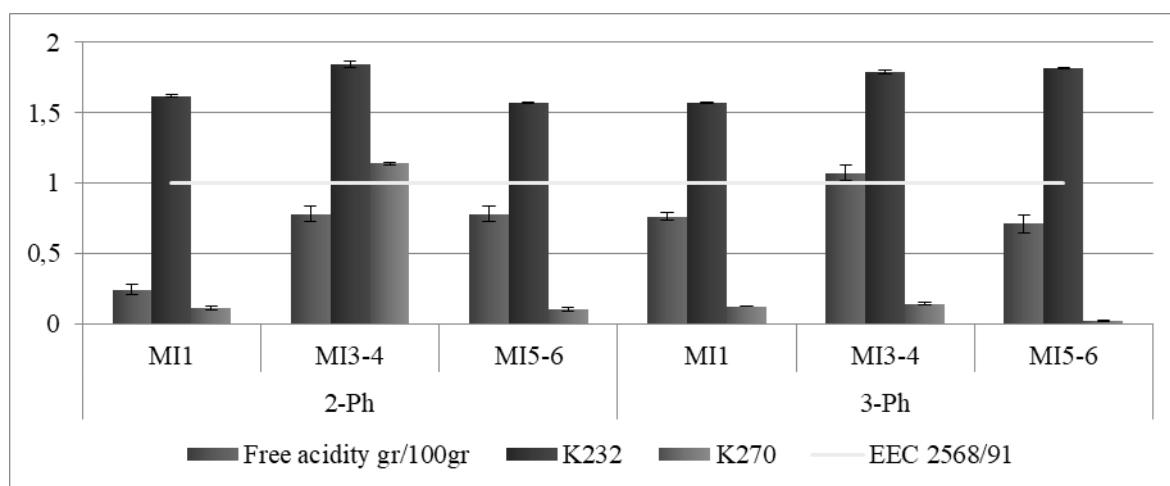


Figure 1. Graph of physical chemical parameters of olive oil samples

Another oxidation indices parameter is as well peroxide index which express the initial oxidation of olive oil, that can be caused from incorrect oil extraction practices, or incorrect storage condition, the higher the value of the peroxide, the lower the antioxidant capacity of the oil. As shown in Figure 2 all the samples had an peroxide index below the limit ( $<20 \text{ meq kg}^{-1}$ ) set by European Commission Regulation EEC/2568/91 (Commission Regulation 2568/91, 1991) for this parameter to classify the olive oils as Extra Virgin Olive Oil.

Chlorophyll and carotenoid pigments are the most important pigments present in the olive fruit and they are fat soluble ingredient; therefore after the extraction they pass into the oil, affecting the color of the oil (Roca & Mínguez-Mosquera, 2001). It has been reported that in the early ripening of the fruit, the chlorophyll and carotene are both present (Isabel Mínguez-Mosquera et al., 1991) and with the ripening, when the fruit turns black, the amount of carotenoids tend to be higher than chlorophyll (Isabel Mínguez-Mosquera et al., 1991). The data obtained confirm the statment from Mínguez Mosquera as the higher chlorophyll content (Figure 2) corresponded to the sample on MI1, processed with 2phase centrifuge, respectively  $8.01 \pm 0.33 \text{ mg kg}^{-1}$  and the lowest chlorophyll content corresponded to sample M5-6, processed with 2phase centrifuge, respectively  $2.6 \pm 0.45 \text{ mg kg}^{-1}$ . The highest carotenoid content corresponded to the sample M1 with the 2phase centrifuge respectively  $5.58 \pm 0.13 \text{ mg kg}^{-1}$  and the lowest corresponded to sample M5-6 with the 3-phase centrifuge, respectively  $2.49 \pm 0.15 \text{ mg kg}^{-1}$ .

The statistical analysis MANOVA on Table 1 shows the effect of extraction systems and the maturation of fruit on the olive oil quality parameters. The analysis showed that for free acidity, K232, K270, peroxide index and for pigments content, both the extraction systems and maturation had a significative ( $P \geq 0.01$ ) effect on these parameters.

The results obtained comply with suggestion by official methods the that free acidity  $K_{232}$ ,  $K_{270}$  and peroxide number are olive oil freshness indices and the low values at MI1 confirm the good overall quality of these oils that maturation stage. As expected the chlorophyll content was higher on MI1(A) and lower on M5-6(C), but in the same line is the carotenoids content as well. Also, the statistical analysis for data obtained in this showed that the extraction systems and maturation had no significative effect on total polyphenolic content ( $P < 0.05$ ).

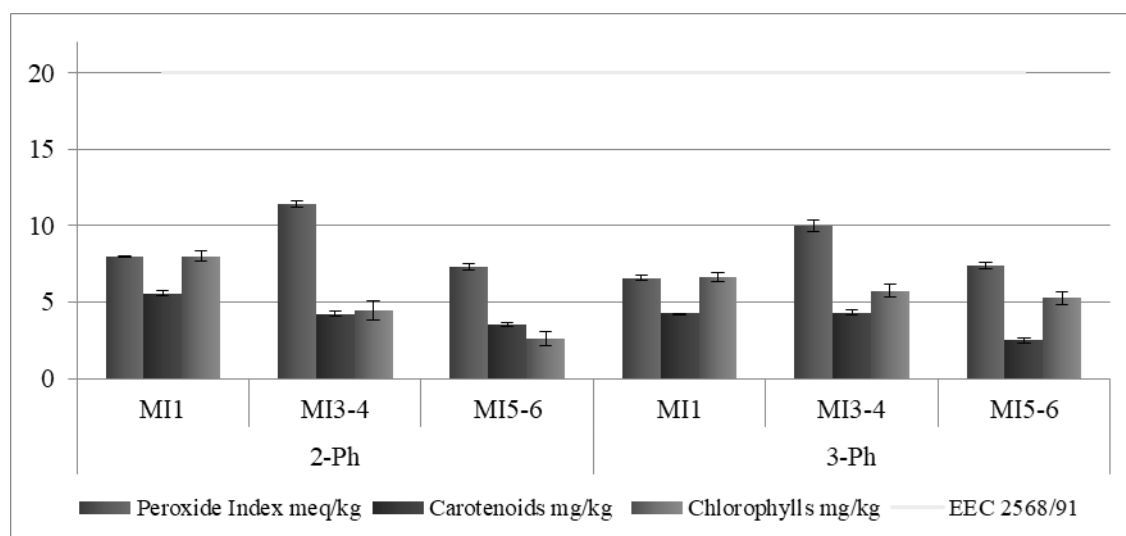


Figure 2. Graph of pigments and peroxide index

Table 1. Effect of processing and maturation on olive oil quality parameters

	Processing (P)		Maturation (M)			SEM	Significance		
	2-ph	3-ph	MI1	MI3-4	MI5-6		P	M	P*M
Free Acidity (g 100g <sup>-1</sup> )	0.60	0.84	0.50 <sup>C</sup>	0.92 <sup>A</sup>	0.74 <sup>B</sup>	0.012	**	**	**
K <sub>232</sub>	1.67	1.72	1.62 <sup>C</sup>	1.81 <sup>A</sup>	1.7 <sup>B</sup>	0.003	**	**	**
K <sub>270</sub>	1.12	1.14	1.12 <sup>B</sup>	1.14 <sup>A</sup>	1.14 <sup>A</sup>	0.002	**	**	**
Peroxide Index (meq kg <sup>-1</sup> )	8.92	7.98	7.29 <sup>B</sup>	10.7 <sup>A</sup>	7.35 <sup>B</sup>	0.055	**	**	**
Carotenoids (mg kg <sup>-1</sup> )	4.44	3.68	4.91 <sup>A</sup>	4.27 <sup>B</sup>	3.00 <sup>C</sup>	0.033	**	**	**
Chlorophylls (mg kg <sup>-1</sup> )	5.01	5.88	7.34 <sup>A</sup>	5.08 <sup>B</sup>	3.92 <sup>C</sup>	0.105	**	**	**
Total polyphenolic content- TPC (mg kg <sup>-1</sup> )	437.02	384.17	333.34	384.69	513.76	29.05	NS	NS	NS

\*\* significant  $P \geq 0.01$ ; \*  $P \geq 0.05$ ; not significant - NS  $P < 0.05$

In fact these are just the preliminary findings and other studies need to be carried out as a result from literature has shown that the total polyphenolic content decreases during maturation of olive fruit (Rotondi et al., 2004), in contrary of our finding in which the polyphenolic content is higher for higher Maturation Index. Regarding the extraction systems the finding in our study, the olive oil from 2-phase centrifugal has a slightly higher content of total polyphenols content, comply with the findings from previous research work (Stefano et al., 1999). This is due to lower quantity of water added to olive paste in comparison to the three-phase centrifugal decanter. The amount of water added determines the dilution of the aqueous phase and lowers the concentration of the phenolic substances that are more soluble in vegetable waste water (Amirante et al., 2010, Caporaso, 2016).

## Conclusions

The results obtained in this research suggested that maturation and extraction system are significant factors to influence the quality parameters of olive oil like free acidity, peroxide index,  $K_{232}$ ,  $K_{270}$  and pigments content. But they have not affected the total polyphenols content, compounds with health benefits and antioxidant properties, even though it shows a higher content in olive oils produced with 2-phase centrifuge. Further work should be done to study much more in detail the specific phenols.

## Acknowledgement

The authors would like to thank the olive oil producers in Ndroq area, Albania for their support in this research work.

## References

- Amirante P., Clodoveo M. L., Leone A., Tamborrino A., Patel V. B. (2010). Influence of Different Centrifugal Extraction Systems on Antioxidant Content and Stability of Virgin Olive Oil. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc.
- Caporaso N. (2016). Virgin Olive Oils: Environmental Conditions, Agronomical Factors and Processing Technology Affecting the Chemistry of Flavor Profile. *Journal of Food Chemistry & Nanotechnology* 2(1): 21–31.
- Gixhari B., Hadar B., Cjeloshi A., Ismaili H. (2014). Olive in the story and art in Albania. *International Conference 'The Adriatic Olive Grove: Risk Prevention, Sustainability, Learning'* 19-20 June, 2014. Corfu, Greece. Olive.
- Isabel Minguez-Mosquera M., Rejano-Navarro L., Gandul-Rojas B., SanchezGomez A. H., Garrido-Fernandez J. (1991). Color-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* 68(5): 332–336.
- Commission Regulation 2568/91, 1 (1991).
- Mancebo-Campos V., Fregapane G., Salvador M. D. (2008). Kinetic study for the development of an accelerated oxidative stability test to estimate virgin olive oil potential shelf life. *European Journal of Lipid Science and Technology* 110(10): 969–976.
- Mane-Kapaj A., Kapaj I., Chan-Halbrendt C., Totojani O. (2010). Assessing the comparative advantage of Albanian olive oil production. *International Food and Agribusiness Management Review* 13(1): 15–26.
- Roca M., and Mínguez-Mosquera M. I. (2001). Changes in chloroplast pigments of olive varieties during fruit ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(2): 832–839.
- Rotondi A., Bendini A., Cerretani L., Mari M., Lercker G., Toschi T. G. (2004). Effect of olive ripening degree on the oxidative stability and organoleptic properties of cv. Nostrana di Brisighella extra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11): 3649–3654.
- Salvador M. D., Aranda F., Fregapane G. (1998). Chemical composition of commercial cornicabra virgin olive oil from 1995/96 and 1996/97 crops. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society* 75(10): 1305–1311.
- Stefano, G. De, Piacquadio, P., Servili, M., Giovacchino, L. Di, & Sciancalepore, V. (1999). Effect of extraction systems on the phenolic composition of virgin olive oils. *Lipid - Fett*, 101(9): 328–332.
- Topi, D., Thomaj, F., & Halimi, E. (2012). Virgine olive oil production from the major olive varieties in Albania. *Agriculture & Forestry* 58(2): 87–95.
- Vossen, P. (2002). Olive oil processing technology influences on quality. *Australian Olive Association: National Olive Industry Conference*, 5.

## Micropropagation of African violet (*Saintpaulia ionantha* H.Wendl.)

Svjetlana Zeljković<sup>1</sup>, Jelena Davidović Gidas<sup>1</sup>, Nada Parađiković<sup>2</sup>, Emina Mladenović<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture, University of Banja Luka, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina.

(svjetlana.zeljkovic@agro.unibl.org)

<sup>2</sup>Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, Osijek, Croatia.

<sup>3</sup>Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia

### Abstract

African violet *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. can be usually propagated vegetatively by leaf cuttings but for rapid multiplication and the creation of genetic variability this ornamental species can be successfully micropropagated. The success of in vitro propagation depends on specific equipment and precise propagation techniques, but other factors such as the type of explants, the physiological state of the mother plant, plant growth regulators in the culture medium and conditions for growth and development are equally important. Furthermore, the decisive factor for the commercial application of micropropagation is an efficient protocol with a high rate of reproduction. This paper presents an optimized protocol for micropropagation of African violets by leaf obtained from commercial plants.

Establishment of in vitro culture from leaf disc explants was successfully using MS medium supplemented with phytohormone cytokinin 6-BAP (6-benzyl-aminopurine) 0.5 mg/l. The first callus was observed one month after the introduction of culture and well-formed shoots after 6 weeks. Regenerations of formed shoots were conducted on MS medium supplemented with cytokinin 6-BAP 0.5 mg/l and auxins IBA (indole-3-butyric acid) 0.1 mg/l. Additional rooting well-formed shoots was not necessary because the shoots already have visible roots. Before transplanting plants outdoors, it is necessary to acclimatize the rooted plants in greenhouse. After successful adaptation the plants can be transplanted into pots and grown outdoors.

**Key words:** African violet, micropropagation, phytohormones, regeneration.

### Introduction

*Saintpaulia ionantha* H.Wendl., commonly known as African violet, belongs to the genus *Saintpaulia* and family *Gesneriaceae*, which consists mainly of tropical shrubs and herbaceous plants. The genus *Saintpaulia* is endemic to Kenya and Tanzania where *Saintpaulia ionantha* H.Wendl. is classified as vulnerable on Red List Category (IUCN SSC East African Plants Red List Authority, 2014)

This genus has attractive foliage and beautiful flowers, which are zygomorphic with two upper and three lower lobes, of various colours (Tatsuzawa and Hosokawa, 2016, Teixeira da Silva et al., 2016).

*Saintpaulia ionantha* H.Wendl. contains many cultivars with varied color and shape and it is a popular commercial plant. The characteristics that have made African violet such a popular houseplant are its floral colours, leaf shapes and pattern, uniform flowering, shade tolerance, ability to flower under artificial light and its ease of propagation (Grout, 1990). These plants are propagated most commonly by vegetative leaf cuttings, when roots form



from leaves or pedicels when placed only in water or river sand, while few cultivars are seed derived (Chen and Henny, 2009)

Micropropagation techniques are employed to produce a large number of new and true-to-type plants in a relatively short period of time. Also, *in vitro* methods are widely used for the introduction of genetic variability for new cultivar development. Micropropagation of African violet from various types of explants, including leaf discs, petioles, petals and anthers has been reported by various researchers (Harney and Knop, 1979, Mithila et al. 2003, Al-Hussein et al. 2006) The *in vitro* culture of African violet is most effective through one of two paths where shoots are regenerated directly from the explants or indirectly via callus formation.

The aim of this study was to establish aseptic cultures and regeneration African violet from leaf explants.

## Material and methods

### Establishment and maintenance of source material

Experiment was performed using leaf tissue segments, including mid-vein of *Saintpaulia ionantha* H.Wendl. Well-expanded leaves of greenhouse grown plants were used as starting material. The leaves were first placed in 96% ethanol for 2 min to break the surface tension, then surface disinfected in 1.5% sodium hypochlorite for 10 min, followed by three rinses in sterile water. The leaves that were damaged by the high concentration of sodium hypochlorite were discarded and the midsection cut with a sterile scalpel into approximately 5-mm cross disks. Leaf disks were placed into test tubes with 40 ml MS basal medium (Murashige and Skoog, 1962) supplemented with phytohormone cytokinin 6-BAP (6-benzyl-aminopurine) 0.5 mg/l. The pH of the medium was adjusted to 5.7 before autoclaving, and sterilized at 121°C for 15 min. The dissection and transfer of sterilized plant material, was carried out in a laminar air flow transfer chamber. Cultures were incubated in a growth chamber at 20°C with 16/8 h photoperiod (day/night). The first callus was observed one month after the introduction of culture and well-formed shoots after 6 weeks (Figure 1 and Figure 2)



Figure 1. Explants placed on the MS basal medium.

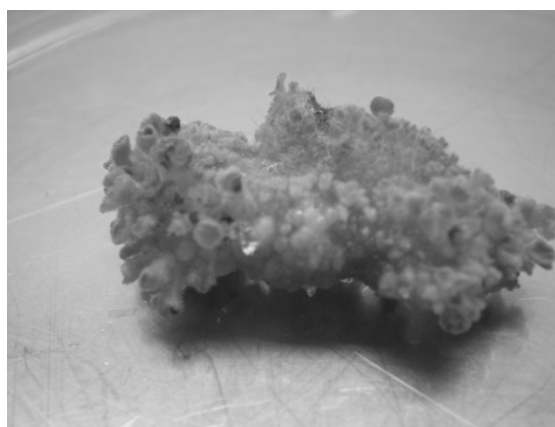


Figure 2. First callus observed after one month

### Micropropagation and rooting

The formed shoots (rosettes) are multiplied in order to obtain as much plant material as possible. Multiplications were conducted in Erlenmeyer flasks, on MS basal medium supplemented with cytokinin 6-BAP 0.5 mg/l and auxins IBA (indole-3-butyric acid) 0.1 mg/l. In each micropropagation shoot cultures were subcultured on fresh shoot regeneration medium. After several consecutive passages, the well-developed violet rosettes were transferred to the rooting medium. Additional rooting well-formed rosettes was not necessary because they have already visible roots (Figure 3).



Figure 3. Shoot multiplications

### *Acclimatization and growth in the greenhouse*

Before transplanting plants outdoors, it is necessary to acclimatize the rooted plants in greenhouse. Rooted violet plants were removed from Erlenmeyer flasks, cultured medium was gently removed from the roots, carefully washed with running tap water ensuring minimum damage to the tissue. Plants were immersed in a solution of fungicide, in order to prevent fungal diseases during plant transfer into 72 cell trays to the substrate. For rooting was used a commercial substrate suitable for sowing seeds and cuttings Fruhstorfer Erde type: *Aussaat und Stecklingserde* from Hawita EU manufacturer. The substrate contains perlite for better aeration and friability. Other substrate characteristics are: pH 5.9; N mg/l=80; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> mg/l=60; K<sub>2</sub>O mg/l=90; retention capacity 700 ml/l. The temperature in the greenhouse was 18-22°C, and the relative humidity was 60-65%. During cloudy days, additional lighting was performed using assimilation lamps with sodium tube (HID lamp 600W). Plants with well-developed roots were transplanted into PVC pots of  $\phi$  9 cm (Figure 4).



Figure 4. African violet transplanted in PVC pots  $\phi$  9 cm

## Results and discussion

Establish aseptic cultures and regeneration of African violet from leaf explants (disks) via well-developed callus was finished in one month. Explants showed first green shoot primordia after callus was formed, and after 6 weeks each explant developed into a mass of shoots. Callus formation was 89%, and shoots regeneration was 100%. Sunpui and Kanchanapoom (2002) have confirmed 100% shoot regeneration from leaf of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) cultured *in vitro*. Radojević et al., (1984) also reported that variety of African violet with double blue flower had 83% regenerated shoots on MS basal medium. The same results were obtained in reserach of Zečević et al. (2001) where petiol of African violet was cultured *in vitro*, and first shoots from callus were developed after 15 days, and first well-developed plants after one month. Successful regeneration from leaf and petiol of African violet was done by Sunpui and Kanchanapoom (2002) where the most callus formed was on MS basal medium with 0.5 mg/l cytokinin TDZ (thidiazuron). For efficiency micropropagation of African violet can be used explants from different leaf parts, but the best reuslts was obtained from leaf segments including mid-vein, cultured on MS basal medium supplemented with cytokinin TDZ or BAP (Al-Hussein et al., 2006). Ghasemi et al. (2012) reported that the highest numbers of adventitious shoots (80 shoots per explant) were observed on a medium containing 0.5 mg/l BAP and 0.5 mg/l IBA.

In our research, additional rooting well-formed rosettes was not necessary because they have already visible roots. In greenhouse plants were acclimatized, and plants adaptation was 96% which is refer as a high percentage of survival, and in agreement with the results of other authors (Radojević et al., 1994, Zečević et al., 2001).

## Conclusions

This research demonstrated that direct plant regeneration of *Saintpaulia ionantha* Wendl. through leaf culture could be obtained. The rapid clonal propagation described here will be very useful for the development and regeneration of *Saintpaulia* species, given the relatively easy way for vegetative propagation and can be efficiently adapted for other ornamental plants. Micropropagated plants can be acclimatized and grown in a substrate and their mixtures with organic matter with a high survival rate, and thus provide a reliable alternative to the conventional method of reproduction.

## References

- Al-Hussein S., Shibli R.A., Karam N.S. (2006). Regeneration in African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) using different leaf explants, cytokinins sources, and light regimes. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 2(4): 361-371.
- Chen J., and Henny R.J. (2009). Cultural Guidelines for Commercial Production of African Violets (*Saintpaulia ionantha*) ENH 1096. Environmental Horticulture Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, USA, pp. 1–4.
- Ghasemi Y., Nematzade, G.A., Omran V.G., Dehestani A., Hosseini S. (2012). The effects of explant type and phytohormones on African violet (*Saintpaulia ionantha*) micropropagation efficiency. *Biharean Biologist* 6(2): 73-76.
- Grout B.W.W. (1990). African violet. In: Ammirato, P.V., Evans, D.A., Sharp, W.R., Bajaj, Y.P.S. (Eds.), *Handbook of Plant Cell Culture* vol. 5. McGraw-Hill, Inc., pp. 181–205.
- Harney P.M., and Knap A. (1979). A technique for the *in vitro* propagation of African violets using petioles. *Can. J. Plant Sci.* 59: 263–266.
- Mithila J., Hall J., Victor J.M.R., Saxena P. (2003). Thidiazuron induces shoot organogenesis at low concentrations and somatic embryogenesis at high concentrations on leaf and petiole explants of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). *Plant Cell Reports* 21(5): 408-414.

- Murashige T., and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco callus cultures; *Physiol. Plant* 15: 473-497.
- Radojević Lj., Vapa Lj., Borojević K., Joksimović J. (1984). *In vitro* vegetative propagation of *Saintpaulia ionantha* and *Pelargonium hortorum*. *Contemporary Agriculture* 32: 385-480.
- Radojević Lj., Marinković N., Zdravković-Korać S., Jevremović S. (1994). Primena različitih postupaka *in vitro* kulture u mikropropagaciji afričke ljubičice, hrizanteme i karanfila. *Savremena poljoprivreda* 42: 117-127.
- Sunpui W., and Kanchanapoom K. (2002). Plant regeneration from petiole and leaf of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) cultured *in vitro*. *Songklanakarin J. Sci. Technol* 24(3): 357-364.
- Tatsuzawa F., and Hosokawa M. (2016). Flower colors and their anthocyanins in *Saintpaulia* cultivars (Gesneriaceae). *Hortic. J.* 85: 63-69.
- Teixeira da Silva J.A., Dewir Y.H., Wicaksono A., Kher M.M., Kim H.-H., Hosokawa M., Zeng S.-J. (2016). Morphogenesis and developmental biology of African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.). *J. Plant Dev.* 23: 15-25.
- Zečević A., Milosavljević S., Čolić S. (2001). *In vitro* razmnožavanje nekih sorti ljubičice (*Saintpaulia ionantha* L.). *Zbornik naučnih radova, PKB Agroekonomik, Beograd - Padinska Skela.* 7: 147 - 152.

## Yield attributes of dandelion (*Taraxacum officinale* Web.) in response to foliar application with selenium

Dragan Žnidarčič

Naklo Biotechnical Center - Vocational College, Strahinj 99, Naklo, Slovenia  
(dragan.znidarcic@bc-naklo.si)

### Abstract

Information regarding the effect of selenium (Se) fertilization rate or type on the growth and development of leafy vegetables is not available. Therefore, greenhouse experiments were conducted to find out the effects of foliar application of selenate ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) to yield properties of dandelion (*Taraxacum officinale* Web.).  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  was supplied by foliar spray in various concentrations (1+1; 2+2 and 5+5 mg Se  $\text{L}^{-1}$  in first experiment; 10+0; 10+10 and 10+50 mg Se  $\text{L}^{-1}$  in second experiment). The first application was performed at the beginning of fourth true leaves stage and the second five days later. In the first part of experiment a higher yield of leaves was obtained only in plants that were being sprayed with the highest Se concentration (5+5 mg Se  $\text{L}^{-1}$ ). Second experiment revealed that a slight (10+0 mg Se  $\text{L}^{-1}$ ) and medium (10+10 mg Se  $\text{L}^{-1}$ ) increase of selenate supply increased the mass of leaves. Significant decrease in leaf fresh weight was observed at highest applied concentration of  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  (10+50 mg Se  $\text{L}^{-1}$ ). The applied  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  concentrations had no significant effect on the dry matter content in leaves. The present study suggests that  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  have potential use as foliar fertilizer for leafy vegetables.

**Key words:** selenate, dandelion, *Taraxacum officinale*, yield attributes

### Introduction

Although the essentiality of Se to higher plants is still under debate, the ability of several crops to accumulate and transform inorganic forms of selenium into bioactive organic compounds, without showing symptoms of toxicity, has important implications for human nutrition and health. Se levels in food chain are primarily determined by Se levels in the soil where the crops are grown. In addition, the accumulation rate of Se depends on the soil pH and redox potential, soil moisture, salinity and  $\text{CaCO}_3$  content, the identity and concentration of competing ions, and by the ability of the crop to absorb and metabolize Se (El-Ramady et al., 2016, Izydorczyka et al., 2021).

Cultivation of plants enriched with Se could be an effective way of producing Se rich foodstuffs and thereby increase health benefits. Se biochemical functions in plants are nowadays well-characterised and over the past decade many studies have been made to increase the Se content in vegetables examining methods such as addition of selenite or selenate to fertilizers, foliar application of Se salts, treating the seeds with aqueous selenium before sowing and hydroponic or aeroponic cultivation in a nutrient solution containing Se. Sors et al. (2005) reported that between 70 and 90 % of the inorganic Se applied seemed to accumulate in soil in form not available for crops. Therefore, selection of an appropriate method must be done with care due to possible harmful effects on the environment. In our experiment we used the foliar application of Se in greenhouse chamber. The Se fertilizer as sodium selenate ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) was sprayed on the leaves with the same volume solution at different Se concentration for spray treatment. Chamber has provided complete control of environment, including temperature, humidity, oxygen availability and artificial lighting.

Another important advantage is that there is no influence on the surrounding environment when enriched solutions are used. In our case Se in the form of  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  was added to the nutrient solution.

Although many studies have recommended the use of Se fertilizers to promote vegetable growth and yield (Smrkolj et al., 2005, Mabeyo et al., 2015), to the best of our knowledge, no Se studies have been made on Se-enriched dandelion (*Taraxacum officinale* Web.). Dandelion is a flowering plant of the Asteraceae family and closely related to chicory. It is a tap-rooted biennial or perennial herbaceous plant, native to temperate areas of the Northern Hemisphere. It has long been used as a phytomedicine for their choleric, diuretic, anti-rheumatic and anti-inflammatory properties. With respect to its utility, dandelion is classed as leafy vegetable, and is grown commercially in the United States and Europe (Chon and Park, 2012, Guarrera and Savo, 2016).

The primary objective of the present study was to assess the effects of different concentration of  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  in foliar solution on crop growth, using a sample of dandelion.

### Material and methods

Two trials with dandelion were carried out in a glasshouse on a laboratory field in Ljubljana, Slovenia. Seeds of dandelion were purchased from a local market. Prior to sowing, the seeds were disinfected with diluted bleach (10%, v/v) for 15 min and carefully rinsed with distilled water. The crops were cultivated in 40-cell plug trays (90 ml volume of each cell) containing a commercial growth peat (Klasmann Tray substrate; pH 6-6.5; N 180 mg L<sup>-1</sup>; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 210 mg L<sup>-1</sup>; K<sub>2</sub>O 250 mg L<sup>-1</sup>; MgO 85 mg L<sup>-1</sup> + microelements).

Moisture content in growing media was maintained at 60 % of field capacity by regular irrigation with deionised water from sowing to maturity. Fertilizer application were performed as required. Thus, once weekly all the crops received a water-soluble fertilizer Peters Professional, Scotts Company (0.75 g N, 0.55 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and 1.45 g K<sub>2</sub>O L<sup>-1</sup>).

During the experiment, day air temperature in the greenhouse chamber varied between 17 and 28°C and at night temperature was between 10 and 14°C. Relative humidity was maintained at 75±10% using ventilation throughout the growing season. Daily values of sun radiation in the greenhouse on sunny day were between 5 and 6 kWh m<sup>-2</sup>. Greenhouse conditions and the practices used to produce the plants were kept as near-ideal as possible. The ventilation temperature was set at 2°C above the heating temperature set points. The daylight was supplemented with Master GreenPower 600W lamps (Philips). The greenhouse climate was monitored and controlled by a DGT-Volmatic System.

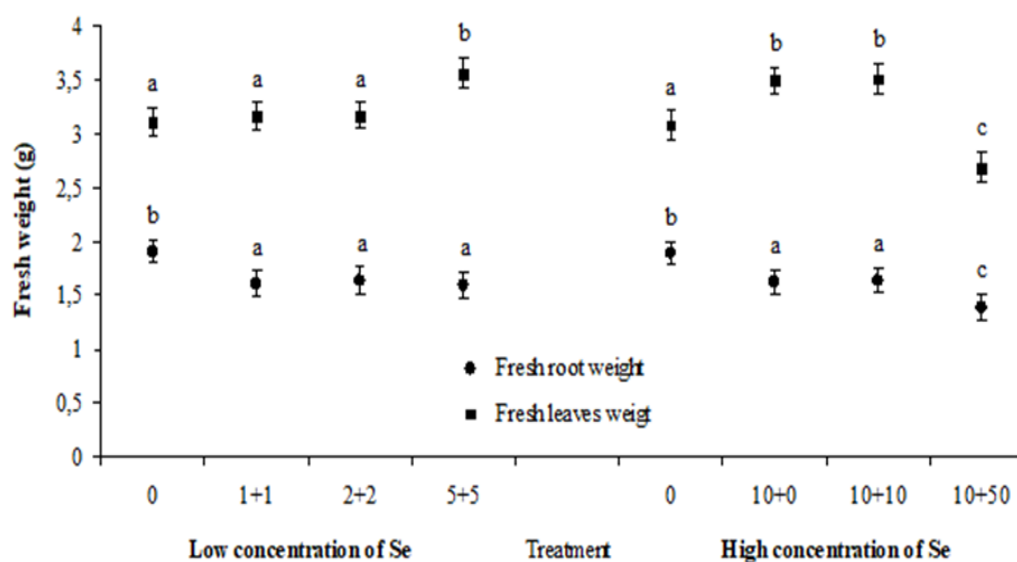
2 parallel trials were carried out with  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  (Se(VI), Sigma-Aldrich, SigmaUltra) spraying solutions of various concentrations. An aqueous solution of  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  was applied twice; trial 1 was sprayed with low concentration of Se (0+0, 1+1; 2+2 and 5+5 mg Se L<sup>-1</sup>) and trial 2 was sprayed with high concentration of Se (0+0, 0+10, 10+10 and 10+50 mg Se L<sup>-1</sup>). First spraying was done on 21<sup>st</sup> day after sowing, when the plants had four leaves, using the hand-operated high volume sprayer. The time interval between spraying was 5 days. During each treatment the same volume solution (60 mL of Se) was sprayed onto each plant group, carefully observing that the solutions were evenly distributed on all leaves. In addition to the Se treated plants, control plants were grown under the same conditions and spraying with 60 mL of deionised water, but were physically separated to avoid cross-contamination during spraying.

At the end of 55-day of growth experiment, twenty plants from each treatment were randomly sampled for harvest. The plants were washed free of any contamination. The yield attributes were measured and evaluated. In order to define dry matter, fresh samples were weighed and dried for three days in an airing cupboard at  $65\pm 5^\circ\text{C}$  to constant weight.

Statistical analysis was based on one-way analysis of variance (ANOVA). The effects of Se treatment were considered statistically significant when  $P < 0.05$ . Data are presented as mean  $\pm$  standard errors ( $n=6$ ).

## Results and discussion

During plant growth no toxic signs, like a garlic smell, red spots on the roots, black spots on the leaves, drying or plant death were noticed, regardless of used Se concentration. In addition, as we expected, Se had a large impact on dandelion productivity. Results of measurements and analysis showed statistically significant differences ( $P < 0.05$ ) in the growth and development of the crops. The influence of different  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  concentrations on fresh leaves and root weights are shown in Graph 1.



Graph 1. Dandelion's fresh leaves and roots weight at different  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  concentrations. Means with the same letter are not significantly different at the  $P < 0.05$ . Bars represent standard errors of the means

All plants (first trial) foliarly sprayed with  $5+5\text{mg Se L}^{-1}$  showed an significant increase in the weight of fresh leaves per plant ( $3.56\text{ g plant}^{-1}$ ), whereas other treatments did not shown any significant differences (averaga values between  $3.11$  and  $3.17\text{ g plant}^{-1}$ ). The fresh leaves analysis in the second trial, carried out with high concentration of Se, revealed that slight ( $10+0\text{mg Se L}^{-1}$ ) and medium ( $10+10\text{mg Se L}^{-1}$ ) increased of Se supply did significant increase this parameter. However, a decrease in leaf fresh weight was observed in response to strong depreviation of Se (treatment with  $10+50\text{mg Se L}^{-1}$ ). In this range, the fresh weight of leaves was by 9.1% lower than that in control group. A similar effect was observed in the present studies. It was reported that Se at low concentrations acts as an antioxidant and can stimulate the growth of lettuce, whereas at higher concentrations it acts as a pro-oxidant, reducing the yield (Hertikainen et al., 2000, Xue et al., 2001).

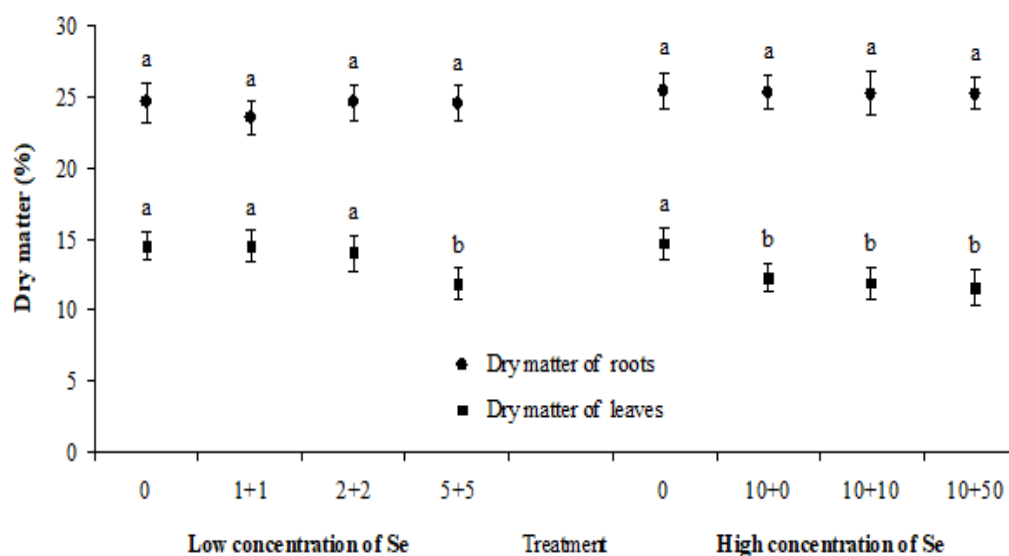
There were also noticeable differences in root growth. Plants without Se addition had a higher root fresh weight in comparison with the Se-enriched plants, irrespective of the concentration.

In the first trial, the maximum fresh root weight was recorded in the roots of control plants. All other treatments had almost the same average weight, which were statistically different to control. In the second trial, high Se concentrations in the nutrient solution had also a visible effect on dandelion crop growth. At the 10+50-mg L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> concentration, leaves were longer (results not shown) and root mass was much reduced compared to other treatments. It should be added that even if leaves had lower growth, there were no apparent abnormalities in the shape or colour of the roots exposed to high concentration of Se. These data are in line with the results of Saffaryazdi et al. (2012), who reported that application of higher Se concentrations reduced root mass, compared to the control.

The results of the effect of different Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> level in nutrient solution on dry matter of leaves and roots were illustrated in Graph 2. The dry matter content is the ratio between dry and fresh weight expressed as a percentage. According Raupp (2000) percentage of dry matter of leaves is an important reference parameter, and is somewhat significant as well to a consumer who does not want to buy watery products. In the first trial, leaves with minimum dry matter content (11.8 %) were produced at highest concentration of Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> (5+5mg Se L<sup>-1</sup>) and significantly differed from all other treatments. All other treatments, including control, were statistically at par (average values were between 14.0 and 14.5 %).

There were also noticeable differences in dry matter content of leaves in the second trial. It was revealed that spraying with Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> solution caused a considerable decline in dry matter content. Plants in the control treatment had higher share of dry matter (14.7 %) in comparison to the Se treatments (average values were between 11.6 and 12.2 %). These results are in the agreement with those obtained by Pezzarosa et al. (2007) on lettuce.

The average content of dry matter in roots was between 23.5 and 24.6 % in the first trial and between 25.2 and 24.4 % the second trial. Although the previous experiments demonstrated that increasing Se concentration in nutrient solution will also increase the dry matter production (Khattab, 2004; Djanaguiraman et al., 2004), there was no significant difference in the share of dry matter in the roots where treatments compared.



Graph 2. Dandelion's dry leaves and roots matter at different Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> concentrations. Means with the same letter are not significantly different at the P<0.05. Bars represent standard errors of the means.



## Conclusions

Foliar application is usually an effective way to compensate soil nutrient deficiency in plants. Our results indicated that that foliar application of Se could recover whole plant growth almost to that of control plants.

However, in future, a pot experiment is needed to illuminate the mechanisms of foliar application effects on bio-fortification in different ecotypes of leafy vegetables via isotope tracer technique. Furthermore, a hydroponic experiment may be conducted to examine the uptake, transport, accumulation and distribution of selenium with foliar application using the synchrotron radiation technique.

## Acknowledgement

The results presented in the paper are an output from research projects J7-9805, which was financially supported by the Slovenian Reserarch Agency. Author is thankful to dr. Petra Cuderman for revising the text.

## References

- Chon S.U., Park, J.S. (2012). Change in plant growth and physiologically-active compounds content of *Taraxacum officinale* under plastic house condition. *Korean J. Crop Sci.* 57: 449-455.
- Djanaguiraman M., Durga Devi A.K., Shanker U., Bangarusamy U. (2004). Influence of selenium on antioxidant enzymes and yield of soybean *J. Agric. Res Manage* 3: 1-4.
- El-Ramady H., Abdalla N., Taha H.S., Alshaal T., El-Henawy A., Faizy S.E., Shams M.S., Youssef S.M., Shalaby T., Bayoumi Y. (2016). Selenium and nano-selenium in plant nutrition. *Environ. Chem. Lett.* 14: 123-147.
- Guarrera P.M., Savo, V. (2016). Wild food plants used in traditional vegetable mixtures in Italy. *J. Ethnopharmacol.* 185: 202-234.
- Hertikainen H., Xue T., Piironen V. (2000). Selenium as an anti-oxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant Soil.* 225: 193-200.
- Izydorczyka G., Ligasa B., Mikulaa K., Witek-Krowiaka A., Moustakas K., Chojnackaa K. (2021). Biofortification of edible plants with selenium and iodine – A systematic literature review. *Sci. Total. Environ.* 754: 141983. Available from: <http://www.sciencedirect.com/>
- Khattab H. (2004). Metabolic and oxidative responses associated with exposure of *Eruca sativa* (rocket) plants to different levels of selenium. *Int. J. Agr. Biol.* 6: 1101-1106.
- Mabeyo P., Mkabwa L., Manoko K., Gruhonjic A., Fitzpatrick P., Landberg G., Erdélyi M., Nyandoro S. (2015). Selenium accumulating leafy vegetables are a potential source of functional foods. *Int. J. Food Sci.* 2015: 1-8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/>
- Pezzarossa B., Petruzzelli G., Petacco F., Malorgio F., Ferri T. (2007). Absorption of selenium by *Lactuca sativa* as affected by carboxymethylcellulose. *Chemosphere* 67: 322-329.
- Saffaryazdi, A., Lahouti, M., Ganjeali, A. and Bayat, H. 2012. Impact of Selenium Supplementation on Growth and Selenium Accumulation on Spinach (*Spinacia oleracea* L.) Plants. *Not. Sci. Biol.*, 4: 95–100.
- Smrkolj P., Germ M., Kreft I., Stibilj V. (2006). Respiratory potential and Se compounds in pea (*Pisum sativum* L.) plants grown from Se-enriched seeds. *J. Exp. Bot.* 57: 3595-3600.
- Sors T.G., Ellis D.R., Salt D.E. (2005). Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynth. Res.* 86: 373-389.
- Xue T., Hertikainen H., Piironen V. (2001). Antioxidation and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant Soil.* 237: 55-61.



**Ratarstvo**

**05**

**Field Crop  
Production**



## Komponente prinosa uljane repice u ekološkoj proizvodnji

Robert–Aron Baronji, Manda Antunović, Vladimir Zebec, Ivana Varga

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (ivana.varga@fazos.hr)*

### Sažetak

U ovom radu provedena je analiza proizvodnje uljane repice na ekološki način. U žetvi su određene visina biljke i visina do prve najniže plodne grane, broj postranih grana i masa biljke, broj komuški po biljci, dužina komuške, broj i masa sjemenki u komuški. Visina biljaka kretala se od 94 do 154 cm, a u prosjeku je iznosila 129 cm. Visina biljke do prve najniže plodne grane varirala od 28 do 72 cm, dok je u prosjeku bila 53 cm. Biljke su prosječno formirale 3 plodne grane. Ukupna masa biljke iznosila je prosječno 135 g po biljci. Biljke su formirale prosječno 97 komuški pri čemu je prosječna dužina komuške iznosila 6,7 cm. Prosječno su komuške u sebi imale 18 sjemenki, a masa svih sjemenki u jednoj komuški iznosila je prosječno 0,09 g.

**Ključne riječi:** uljana repica, agronomska svojstva, komuška, masa, sjeme

### Uvod

Ekološka poljoprivreda kombinira tradicionalnu poljoprivredu usmjerenu na očuvanje okoliša primjenjujući metode suvremene poljoprivredne tehnologije (Reganold i Wachter, 2016.; Šakota, 2016.). Uljana repica kao ozimi usjev sprječava ispiranje nitrata tijekom zime, a žetvenim ostacima veliki dio hraniva se vraća u tlo (Valantin-Morison i Meynard, 2008.; Crnobarac i sur., 2015.). Osim za izdvajanje ulja, uljana repica ima veliki značaj i u hranidbi životinja (Marjanovic-Jeromela i sur., 2006.) i proizvodnji biodizela (Vasenev i sur., 2017.).

Tablica 1. Proizvodnja uljane repice u Republici Hrvatskoj od 2015. do 2019. godine (Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske, 2020.; Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, 2020.).

Godina	Korištena poljoprivredna površina (ha)	Površine ekološke poljoprivrede (ha)	Površine pod ekološkom uljanom repicom (ha)	Ukupna proizvodnja ekološke uljane repice (t)	Površina konvencionalne uljane repice (ha)	Proizvodnja konvencionalne uljane repice (t)
2015.	1 537 629	75 818	1 034	2 309	21 977	56 783
2016.	1 546 019	93 594	2 421	4 953	36 778	112 990
2017.	1 496 663	96 618	3 699	8 877	48 616	135 810
2018.	1 485 645	103 166	4 078	8 898	55 032	155 842
2019.	1 504 445	108 169	2 375	5 325	41 361	103 900
<b>Prosjeck</b>	<b>1 514 080</b>	<b>95 473</b>	<b>2 721</b>	<b>6 072</b>	<b>40 753</b>	<b>113 065</b>

Prema podacima Državnog zavoda za statistiku Republike Hrvatske (DZS, 2020.), u Republici Hrvatskoj je u razdoblju od 2015. do 2019. godine prosječan udio površina pod ekološkom proizvodnjom, u odnosu na ukupno korišteno poljoprivredno zemljište, iznosio 6,3 % (Tablica 1). Površina korištenog poljoprivrednog zemljišta u ekološkoj proizvodnji po kategorijama u Osječko-baranjskoj županiji konstantno raste, što potvrđuju podaci DZS-a

(2020.). Naime, u 2016. godini u Osječko-baranjskoj županiji bilo je ukupno 17 219 ha ekološke proizvodnje ratarskih usjeva, dok je 2019. godine ta površina povećana na 20 216 ha. Površine pod uljanom repicom u konvencionalnoj proizvodnji također imaju pozitivan trend rasta (Tablica 1) te se uljana repica se u Hrvatskoj u razdoblju 2015. – 2019. godine uzgajala na prosječno 40 753 ha. U istom razdoblju prosječan prinos je iznosio 2,8 t ha<sup>-1</sup> (DZS, 2020.), uz variranja od 2,5 t ha<sup>-1</sup> (2019. godine) do 3,1 t ha<sup>-1</sup> (2016. godine).

Među komponente prinosa uljane repice ubrajaju se: broj biljaka po jedinici površine (m<sup>2</sup>), broj komuški po biljci, broj sjemenki po komuški i masa 1000 zrna, visina stabljike do početka grananja, tj. do prve plodne grane, visina biljke, dužina komuške i masa sjemenki u komuški (Asare i Scarisbrick, 1995., Pospišil i sur., 2014., Anđelić i sur., 2018., Poisson i sur., 2019.).

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti neke komponente prinosa uljane repice u ekološkoj proizvodnji u vegetaciji 2019./2020. godine. U ovom radu cilj je bio odrediti visinu biljke, visina do prve najniže plodne grane, broj komuški po biljci, dužinu komuške i masu sjemenki za svaku pojedinačnu komušku.

## Materijal i metode

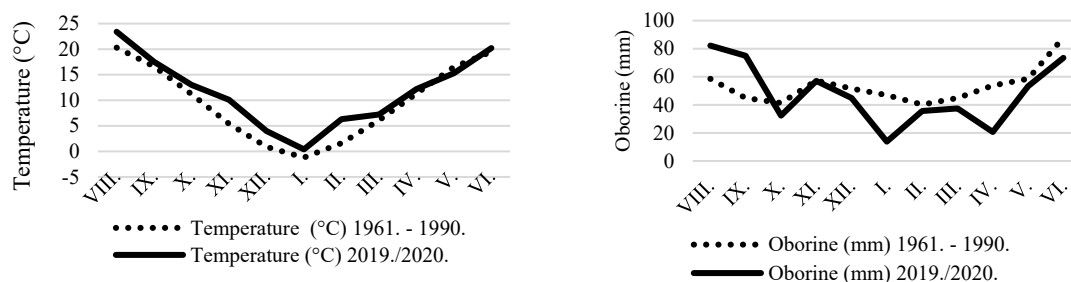
Istraživanje je provedeno na površinama PO Kovač farma koje se nalazi u Laslovu (Osječko-baranjska županija) na kojima je uljana repica 2019./2020. bila zastupljena na 20 hektara. Predusjev je bio ječam, a krajem kolovoza obavljeno je oranje, zatim tanjuranje u dva prohoda te drljanje u dva prohoda. Sjetva hibrida uljane repice Hybrirock (KWS SAAT SE & Co. KGaA), obavljena je 15. rujna 2019. godine. Nicanje uljane repice je bilo zadovoljavajuće.

S obzirom na to da se uljana repica uzgajala u ekološkoj proizvodnji, u osnovnoj gnojidbi (28. kolovoza 2019.) dodan je granulat soli GeO<sub>2</sub> (germanium dioksid, Stockton) u količini od 200 kg ha<sup>-1</sup>. Premda štetnici u jesen (kopusni buhači i repičina osa listarica), mogu izazvati golobrst (Mitrović i sur., 2009.), upotreba kemijskih sredstava u zaštiti od štetnika nije primijenjena u jesen niti u proljeće budući da nije bilo jačeg napada štetnika. Bolesti na uljanoj repici nije bilo. Budući da je uzgoj uljane repice bio ekološki, nikakva kemijska sredstva nisu primijenjena u zaštiti protiv korova. Kako bi se uništili korovi, proveden je prohod češljastom drljačom (29. ožujka 2020. godine).

Žetva uljane repice obavljena je početkom srpnja 2020. godine. Neposredno prije žetve uljane repice na 40 slučajno odabranih biljaka određene su visina biljke (cm), visina do prve najniže plodne grane (cm), broj postranih grana, masa biljke (g) i broj komuški po biljci. Na 50 komuški sa svake biljke određena je dužina komuške (cm), prebrojane su sjemenke u komuški i određena je ukupna masa sjemena za pojedinačnu komušku.

Srednje dnevne temperature iznad 20 °C u sjetvi uljane repice 2019. godine su uz dovoljno vlage u površinskim slojevima tla dovele do brzog klijanje i nicanje usjeva uljane repice u svega nekoliko dana. Veliki ekstremi su se dogodili tijekom studenog 2019. godine kada je mjesečni prosjek temperatura iznosio 10,1 °C, što je naspram višegodišnjeg prosjeka za 5,4 °C više. Međutim, premda je bilo toplo, uljana repica nije bila prerazvijena za zimsko razdoblje. Krajem zime, u veljači 2020. temperatura je bila izrazito visoka 6,3 °C, u usporedbi s višegodišnjim prosjekom (1961. – 1990.) od 1,6 °C. Iz grafikona 1. može se vidjeti nedostatak oborina tijekom cijele vegetacije osim u rujnu te studenom u usporedbi s višegodišnjim prosjekom na području Osijeka. Iako je veljača bila toplija, prva prihrana provedena je 18. ožujka 2020. godine organskim gnojivom, koje je ujedno biostimulator –

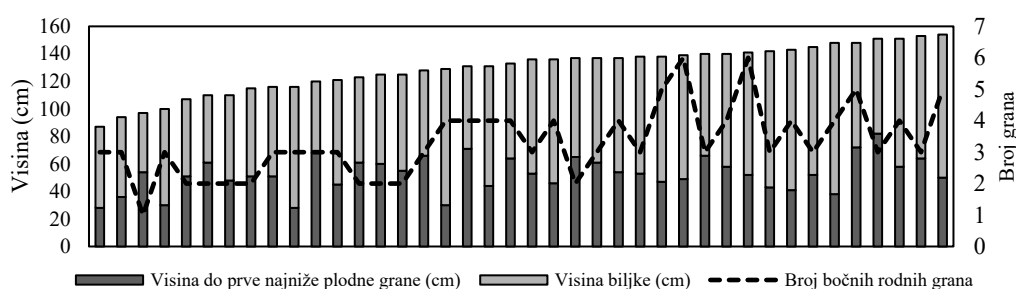
EkoBooster, u dozi 2 l ha<sup>-1</sup>. Druga prihrana provedena je 4. travnja 2020. godine s organskim pripravkom Eko Vital (gnojivo i stimulator razvoja bakterija u tlu).



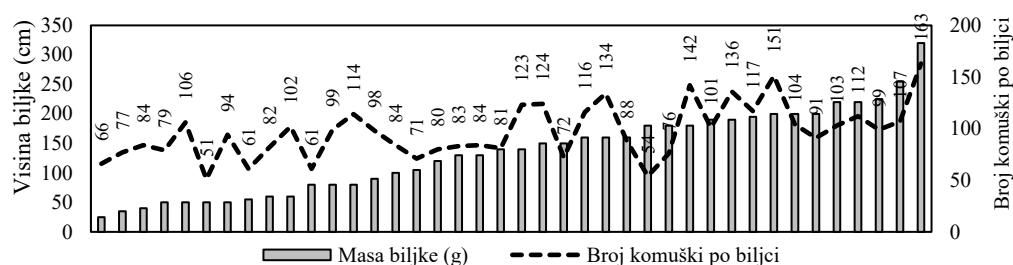
Grafikon 1. Vremenske prilike u vegetacijskom razdoblju 2019./2020. uz višegodišnje prosječne vrijednosti (1961.–1990.) za meteorološku postaju Osijek (Državni hidrometeorološki zavod, 2020.)

## Rezultati i rasprava

Prosječna visina biljaka uljane repice u ovom istraživanju iznosila je 129 cm (Grafikon 2), pri čemu je najniža biljka bila visine 94 cm, a najviša 154 cm. Visina biljke do prve najniže plodne grane varirala od 28 do 72 cm, dok je u prosjeku bila 53 cm. Treba istaknuti kako je na 17 biljaka prva plodna etaža bila na visini između 41 i 54 cm. Općenito, uljana repica formirala je od 1 do 6 plodnih grana, pri čemu je prosjek iznosio 3 plodne grane. Pospišil (2013.) navodi kako u konvencionalnoj proizvodnji stabljika može najčešće narasti između 150-180 cm, a grananje stabljike počinje 30-60 cm iznad površine tla.



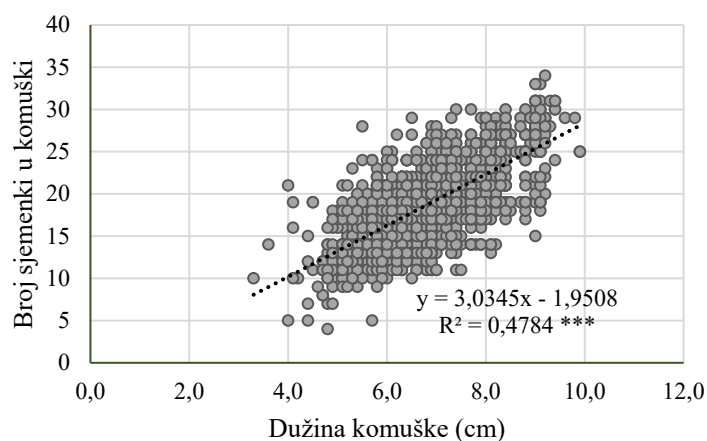
Grafikon 2. Morfološka svojstva uljane repice u ekološkoj proizvodnji 2019./2020. godine (N = 40).



Grafikon 3. Kretanje mase biljke i broja kumuški po biljci uljane repice u ekološkoj proizvodnji 2019./2020. godine (N = 40).

Ukupna masa biljke iznosila je prosječno 135 g po biljci. Masa biljaka bila je u rasponu 25 – 385 g po biljci, a najviše biljaka, njih 14, imalo je masu ispod 100 g, dok su samo 2 biljke imale masu iznad 240 g (Grafikon 3). Anđelić i sur. (2018.) navode kako je u konvencionalnoj proizvodnji prosječna masa biljaka uljane repice iznosila 112,0 g po biljci pri

gustići od 20 biljaka po m<sup>2</sup>, a kod gustoće od 40 biljaka po m<sup>2</sup> prosječna masa iznosila je 295,3 g po biljci. U ovom istraživanju na repici je bilo prosječno razvijeno 97 kumuški (Grafikon 3). Broj kumuški u ovom istraživanju je također bio različit, pri čemu je najviše biljaka, njih 18, razvilo od 78 do 105 kumuški po biljci. Općenito, uljana repica može na sebi imati od 100 do 600 kumuški (Pospišil, 2013.). Broj kumuški općenito varira ovisno o vremenskim uvjetima, genotipu i gustoći sklopa (Anđelić i sur., 2018.). Pospišil i sur. (2014.) na osnovu trogodišnjeg istraživanja u Zagrebu navode kako su biljke uljane repice u intenzivnoj proizvodnji imale prosječno 216 (2009./10.) do 419 (2011./2012.) kumuški po biljci.



Grafikon 4. Linearna regresija dužine kumuške i broja sjemenki u kumuški (N = 2000)

Prosječna dužina kumuške iznosila je 6,7 cm (Grafikon 4). Prosječno su kumuške u sebi imale 18 sjemenki. Masa sjemenki jedne kumuške kretala se od 0,07 do 0,10 g po kumuški, iz čega proizlazi kako je prosječna masa svih sjemenki u jednoj kumuški iznosila 0,09 g. Prema regresijskoj analizi (Grafikon 4.), utvrđeno je kako je za povećanje 1 cm dužine kumuške, broj sjemenki u kumuški povećava za oko 3 sjemenke. Prema Habekotté (1996.) kumuške uljane repice u dvogodišnjem istraživanju u Nizozemskoj imale su prosječno oko 6,6 do 17,7 sjemenki. Slične rezultate dobili su i Anđelić i sur. (2018.), koji navode da je broj sjemenki po kumuški u konvencionalnoj proizvodnji iznosio prosječno 20,6, a masa sjemenki jedne kumuške prosječno 0,10 g.

Na osnovu požnjene površine, provedene agrotehnike i utjecaja vremenskih prilika prosječan prinos sjemena uljane repice na PO Kovač Farma u ekološkoj proizvodnji tijekom vegetacije 2019./2020. iznosio je 2,5 t ha<sup>-1</sup>.

## Zaključak

U ovom radu određene su komponente prinosa uljane repice u ekološkoj proizvodnji tijekom vegetacijske sezone 2019./2020. godine. Prosječna visina biljaka uljane repice u ovom istraživanju iznosila je 129 cm, a biljke su imale 3 plodne grane. Ostvaren broj kumuški po biljci je relativno nizak (prosječno 97), dok je prosječan prinos sjemena bio 2,5 t ha<sup>-1</sup>.

## Literatura

Anđelić E., Antunović M., Stošić M., Iljić D., Varga I. (2018). Yield components of winter oilseed rape regard to plant population. *Columella-Journal of Agricultural and Environmental Sciences*. 5(2): 33-41

- Asare E., Scarisbrick D. H. (1995). Rate of nitrogen and sulphur fertilizers on yield, yield components and seed quality of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Field Crops Research*. 44(1): 41-46.
- Crnobarac J., Marinković B., Jeromela-Marjanović A., Balalić I., Jaćimović G., Latković D. (2015). The effect of variety and sowing date on oilseed rape yield and quality. *Agriculture and Food*. 3: 241-245.
- Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske (2020). PC-Axis baze podataka, Poljoprivreda, lov, šumarstvo i ribarstvo. Raspoloživo: <https://www.dzs.hr> (pristupljeno 18. 9. 2020.)
- Habekotté B. (1996). Winter oilseed rape: analysis of yield formation and crop type design for higher yield potential. Thesis Landbouwniversiteit Wageningen. Wageningen.
- Marjanovic-Jeromela A., Vasic D., Marinkovic R., Mihailovic V., Mikic A. (2006). Use of oilseed rape meal in livestock diet. *Acta Agriculturae Serbica*. 9(17): 515-519.
- Mitrović P., Milovac Ž., Marinković R. (2009). Current problems in the protection of winter rapeseed (*Brassica napus* var. *napus* L.). *Zaštita bilja*. 60(2): 127-144.
- Poisson E., Trouverie J., Brunel-Muguet S., Akmouche Y., Pontet C., Pinochet X., Avice J. C. (2019). Seed yield components and seed quality of oilseed rape are impacted by sulfur fertilization and its interactions with nitrogen fertilization. *Frontiers in plant science*. 10:458.
- Pospíšil M. (2013). Ratarstvo II. dio – industrijsko bilje. Zrinski d.d. Čakovec.
- Pospíšil M., Brčić M., Pospíšil A., Butorac J. (2014). Prinos i komponente prinosa istraživanih hibrida i sorata uljane repice. *Poljoprivreda*. 20(1): 3-9.
- Reganold J. P., Wachter J. M. (2016). Organic agriculture in the twenty-first century. *Nature plants*. 2(2): 1-8.
- Šakota T. (2016). Organska vs. konvencionalna proizvodnja. *Glasnik Zaštite Bilja* 39(4):50-54.
- Valantin-Morison M., Meynard J. M. (2008). Diagnosis of limiting factors of organic oilseed rape yield. A survey of farmers' fields. *Agronomy for sustainable development*. 28(4): 527-539.
- Vasenev I., Andreeva I., Koshkin E., Samardžić M. (2017). Possibilities of rapeseed cultivation as bioenergetic crop under conditions of chemically degraded soils in Russia. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM*. 17: 725-732.

## Yield components of oilseed rape in organic agriculture

### Abstract

In this paper, an analysis of oilseed rape production in organic agriculture was performed. In harvest, the height of the plant and the height to the first lowest fertile branch, the number of lateral branches and the mass of the plant, the number of pods per plant, the length of the pod, were determined. The height of the plants ranged from 94 to 154 cm, and the average was 129 cm. The plant's height to the first lowest fruiting branch varied from 28 to 72 cm, while on average, it was 53 cm. Plants formed an average of 3 fertile branches. The total weight of plants was, on average, 135 g per plant. Plants formed an average of 97 clumps. The average length of the pods was 6.7 cm. On average, there were 18 seeds in a pod, and the weight of all seeds in one pod was on average 0.09 g

**Keywords:** oilseed rape, agronomic properties, pod, mass, seed



## The Vinodol Law provisions related to wheat as the most important agricultural crop in the Middle Ages

Daniel Haman<sup>1 2</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek, Croatia (daniel.haman@fazos.hr)*

<sup>2</sup>*Faculty of Law, St. Cyril and St. Methodius University of Veliko Tarnovo, T. Turnovski 2, Veliko Tarnovo, Bulgaria*

### Abstract

Wheat, as one of the most important agricultural crops grown in the medieval times, was mentioned in the Vinodol Law, the oldest Croatian legal monument. These legal provisions dating back to the 13<sup>th</sup> century show the importance of wheat to medieval people. The Vinodol Law mentions wheat in two separate articles and prescribes high penalties for wheat theft in granaries or arson in the field. Since the Vinodol Law punishments for stealing of wheat or for setting a fire to wheat were rather harsh, it is concluded that wheat, as an agricultural product, was highly valued in daily life of medieval people.

**Key words:** Croatia, Vinodol Law, wheat, theft, arson

### Introduction

Based on the archaeological evidence, the earliest form of wheat cultivation was associated with the Fertile Crescent of the Near East, dating back to the period of 9000 to 7000 BC. The beginnings of plant domestication are dated around 8000 BC (Bell, 1987). Over the centuries, wheat grain was used mainly for human nutrition. Nowadays, its main usage remained the same, since wheat is used in bread making, for biscuits, cookies, cakes, breakfast cereal, pasta, noodles, as well as for fermentation of beer and some other alcoholic beverages. Wheat is also indispensable in livestock feeding, its straw is used as a construction material, and recently its usage extends to industry of biofuels. Until the early 19<sup>th</sup> century, growing and harvesting of wheat did not differ much from the methods of the ancient world. Farmers harvested wheat by hand with a sickle or a scythe.

Wheat, as one of the most important agricultural crops of the medieval times, was mentioned in the oldest Croatian legal monument. Barley, oats and rye were also grown by Croatian medieval peasants. Growing of olives was very popular on the seaside. Other crops included pulses (beans and peas), as well as fruits and vegetables. Production of cereals (mainly wheat, barley, oats and rye) was important in most European regions, not just in Croatia.

Presently, next to maize, wheat is the most common field crop in plant production of Croatia and the world (Iljkić et al., 2019).

### Material and methods

In order to conduct proper research on the subject, full text of the Vinodol Law (both in Croatian and English) was used, from the book by Lujo Margetić: *Vinodolski zakon* from 1989. For the purpose of comparison of punishments, based on the methodology of comparative legal research, the oldest Slavic law in the world *Zakon sudnyj ljudem* was also used in this article from the book by H. W. Dewey and Ann Kleimola: *Zakon sudnyj ljudem*

*(Court law for the people)* from 1977. Several other books and scientific articles were consulted in order to complete this article and they are listed below.

## Results and Discussion

The Vinodol Law (in Croatian: Vinodolski zakon or zakonik) is one of the oldest Slavic codes in the world and one of the most important legal and cultural monuments of the Croatian people. It is also one of the most important historical documents of medieval Europe. It is written in the Croatian Glagolitic script and in the Chakavian dialect of Croatian language (Haman, 2021).

The Law was compiled by a commission of 42 members on 6<sup>th</sup> January 1288 in Novi (today the city of Novi Vinodolski) on the Croatian Adriatic coast. The document is based on ancient customs of “old and tested laws” that locals lived by. At the end of the 13<sup>th</sup> century, it was quite rare that people themselves, represented through others, set forth their legal traditions in writing and in their own native language. The Vinodol Law was first published in 1843 by Croatian writer and linguist Anton Mažuranić in the magazine Kolo (Margetić, 1988). The Law itself was not preserved in the original manuscript, but the copy from the 16<sup>th</sup> century is preserved and kept in the National and University Library in Zagreb, Croatia.

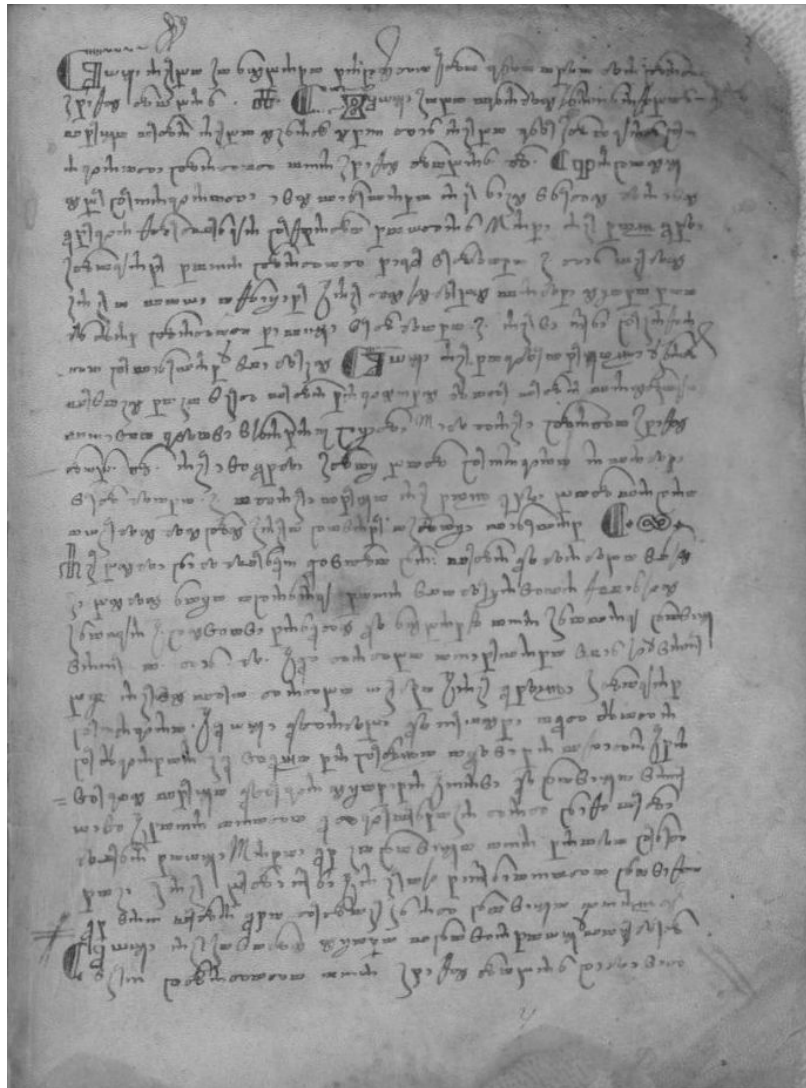
Initially, the Law was neither divided into articles nor marked with numbers. That was done later on by publishers and scholars. Croatian legal historians Marko Kostrenčić, Josip Bratulić and Lujo Margetić divided the Vinodol Law into 75 articles, Anton Mažuranić into 76 and Vatroslav Jagić, Franjo Rački, Miho Barada and Vjekoslav Štefanić into 77 articles (Bartulović, 1997). The Vinodol Law is providing a great insight into the Croatian past. As opposed to the so-called political chronicles, which present important individuals and battles, yet miss an elementary aspect of any historical study - daily life of a common man, the Vinodol Law offers an extensive source of information about the everyday life of ordinary Croatian ancestors. It does not deal with the life of a feudal lord or his court, nor does it deal with some general legal principles. Its compilers did not bother much to write down the Law's provisions in an especially solemn or formal style. The Vinodol Law deals exclusively with usual, daily problems of simple commoners living at that time. It is justified to say that writing a law for the commoners was not an easy task, as feudal lords actively protected their own interests, which often appeared in the text of the Law. The compilers of the Vinodol Law tried to protect simple people from the overwhelming and overpowering influence of the feudal lords, especially in the judicial system (Haman, 2021). In the Middle Ages, peasantry was usually engaged in agricultural activities, so the Vinodol Law provided some legal regulations related to agriculture and crop production.

In the Vinodol Law, there are two articles (8 and 10) mentioning wheat and its importance to a common medieval man.

*(Art. 8) Furthermore, if someone during the night stole an animal from a stable or wheat from the thrashing floor or honey from a beehive, where honey-bees are kept, he must also pay the lord 50 libras, if there was a cry of »help« while if he committed the crime during the day he must pay 40 soldins, and also the same if he committed the crime at night and there was no cry of »help« as well as double damages, as is written. The cry is credible.*

As regulated by the mentioned article, stealing of wheat, just as stealing an animal or honey, was considered a crime so serious that it had to be regulated in writing by the Vinodol Law, instead of dealing with it by a customary procedure of unwritten, common law, which was practiced at that time. The seriousness of the crime committed by stealing of wheat is

reflected in the high financial penalty. Since the Vinodol Law prescribed the same amount of fine for assault and battery, it is obvious that agricultural products like wheat, and animals used in wheat production were highly appreciated in the community.



Picture 1. Forth page of the Vinodol Law with articles 8 and 10 (Courtesy of the National and University Library in Zagreb).

The second article that mentions wheat is connected with arson.

*(Art. 10) And furthermore, regarding theft in a stable and for the setting of fire to wheat which is standing in the fields and also for the taking of hay from a hay-stack at night - for these acts the wrongdoer must wage his law with 5 compurgators. And then he may not have an assistant without the court's permission.*

*Nevertheless, let he who must swear find compurgators as he knows best and if he cannot have them, he must swear himself or the compurgators must swear as many times as the oath must be taken.*

Arson was a very serious crime during the Middle Ages. Just for an example, *Zakon sudnyj ljudem* as the oldest Slavic law in the world, prescribes capital punishment only for arsonists (Dewey and Kleimola, 1977). Legal provisions contained in the Vinodol Law did not differ much from *Zakon sudnyj ljudem*, even though there are around four centuries time lapse between those two law codes.

While we cannot be certain regarding the punishment for setting wheat on fire, according to the Vinodol Law's article 62, the punishment for a culprit committing arson was a very high fine and in case the same culprit repeated the same crime, the death penalty was sentenced.

## Conclusions

Unlike the most of Croatian medieval legal documents, the Vinodol Law is a monument to the old Croatian and Slavic law. Punishments and fines were regulated by commoners themselves, so they reflect social values of medieval communities. Since the Vinodol Law punishments for stealing of wheat or for setting a fire to wheat were rather harsh, it is concluded that wheat, as an agricultural product, was highly valued in daily life. In the past, wheat was indispensable in making of bread for human nutrition, thus being a symbol of human existence and well-being. In this sense, wheat as a symbol of food production has retained its significance throughout history up to the present time.

## References

- Bartulović Ž. (1997). *Neka pitanja stvarnih i obveznih prava: Vinodolski zakon (1288), Krčki i Senjski statut (1388): S uvodnim razmatranjem o povijesti otoka Krka, Vinodola i Senja od antike do konca XV. stoljeća*, Rijeka, Croatia: Matica Hrvatska - Rijeka Branch
- Bell G. D. H. (1987). The history of wheat cultivation. In *Wheat Breeding: Its scientific basis* (F. G. H. Lupton, ed.), Chapman and Hall Ltd, London, UK: 31-49.
- Dewey H. W., and Kleimola, A. M. (1977). *Zakon sudnyj ljudem (Court law for the people)*. In Michigan Slavic Materials No. 14. Ann Arbor, USA: Department of Slavic languages and literatures, University of Michigan.
- Haman D. (2021). *Influence of the medieval legal monument Zakon sudnyj ljudem on the Vinodol Law and its legacy in the medieval Croatian legal system (Doctoral dissertation)*. Cyril and St. Methodius University of Veliko Tarnovo, Bulgaria.
- Iljkić D., Kovačević V., Rastija M., Antunović M., Horvat D., Josipović M., Varga I. (2019). Long term effect of Fertdolomite on soil, maize and wheat status on acid soil of eastern Croatia. *Journal of Central European Agriculture*, 20 (1): 461-474.
- Margetić L. (1989). *Vinodolski zakon*. Rijeka - Novi Vinodolski, Croatia, Yugoslavia: Municipality of Rijeka Assembly, Municipality of Crikvenica Assembly, Culture department of Crikvenica Municipality, Faculty of Law in Zagreb, Faculty of Law in Rijeka, Tourist alliance of Crikvenica Municipality, Tourist society of Novi Vinodolski. National museum and gallery Novi Vinodolski

## Prinos, agronomska i morfološka svojstva kukuruza različitih FAO skupina

Dario Iljkić, Ivan Efinger, Mirta Rastija, Bojan Stipešević, Miro Stošić, Ivana Varga

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (diljkic@fazos.hr)*

### Sažetak

Cilj rada bio je utvrditi prinos, agronomska i morfološka svojstva šest hibrida kukuruza različite duljine vegetacije (od FAO 330 do FAO 570). Pokus je postavljen na pokušalištu Tenja Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek tijekom 2019. godine u tri ponavljanja. Analizom varijance utvrđena je statistička značajnost ( $p < 0,05$ ) za prinos, morfološka obilježja (visina, dužina i promjer te broj redova zrna na klipu) i agronomska svojstva (broj dana do svilanja, hektolitarska masa, masa 1000 zrna) ovisno o FAO grupi kukuruza. U pogledu prinosa nije uočena jasna razlika između FAO grupa, dok je hektolitarska masa i masa 1000 zrna bila statistički veća kod srednje ranih, srednje kasnih i kasnih hibrida. Visina klipa je bila značajno veća kod hibrida kraće vegetacije dok kod ostalih morfoloških svojstava nije uočena prednosti niti jedne FAO grupe.

**Ključne riječi:** FAO grupa, kukuruz, prinos, vremenske prilike, svojstva

### Uvod

Zbog vrlo široke upotrebe u hranidbi domaćih životinja, prehrani ljudi i industrijskoj preradi kukuruz je jedna od najvažnijih ratarskih kultura širom svijeta. Prema podacima FAOSTAT-a u prosjeku od 2013. godine do 2018. godine kukuruz se uzgajao na oko 191 milijuna hektara u više od 160 zemalja (FAOSTAT, 2020.) što mu omogućuje različita duljina vegetacije i sposobnost da može uspijevati u različitim agrokološkim uvjetima. S obzirom da postoji 12 FAO skupina kukuruza (od 100 za najranije do 1200 za najkasnije hibride kukuruza) koje obuhvaćaju cijelo uzgojno područje, hibridi se svrstavaju u vegetacijske skupine dozrijevanja na osnovi datuma svilanja i sadržaja vode u zrnu u zriobi. Broj dana od nicanja do svilanja je varijabilan, a razdoblje od svilanja (oplodnje) do fiziološke zrelosti je dosta konstantno za sve hibride i otprilike iznosi oko 60 dana. Obično se FAO skupine jedna od druge razlikuju u vremenu dozrijevanja od 7 do 10 dana (Kovačević i Rastija, 2014.). Iako je poznato da razlike u prinosu, agronomskim i morfološkim svojstvima postoje na razini podvrste i hibrida kukuruza mnogi autori su pokazali da razlike postoje i na razini FAO grupe (Andrić i sur., 2010., Vozhegova i sur., 2014., Krička i sur., 2019., Alina i Doru Ioan, 2019.). Autori uglavnom navode da su razlike posljedica genetske osnove svake jedinice u određenim okolinama pri čemu naglašavaju značaj mikrolokacije.

Cilj rada bio je utvrditi prinos, agronomska i morfološka svojstva šest hibrida kukuruza različite duljine vegetacije uzgajanih tijekom 2019. godine uz osvrt na ulogu vremenskih prilika.

### Materijal i metode

Poljski pokus je proveden na površinama pokušališta Tenja Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek (45.51'79" sjeverne geografske širine i 18.77'83" južne geografske širine) na eutrično smeđem tipu tla koje karakterizira neutralno do slabo lužnata pH reakcija tla te vrlo

dobra opskrbljenost fosforom i kalijem. Korišteno je ukupno šest hibrida različitih FAO skupina sjemenske kuće Bc Institut za oplemenjivanje i proizvodnju bilja d.d. Zagreb (FAO 330 - BC 323, FAO 390 - Agram, FAO 410 - Tesla, FAO 450 - BC 415, FAO 490 - Instruktor i FAO 570 – Majstor). Sjetva je obavljena 18. travnja 2019. godine pneumatskom sijačicom na međuredni razmak 70 cm i na razmak unutar reda 19 cm što predstavlja teoretski sklop od 75000 biljaka po hektaru. Poljski pokus je postavljen u tri ponavljanja pri čemu je osnovna veličina parcelice iznosila 28 m<sup>2</sup>, a sastojala se od 2 reda kukuruza ukupne dužine 20 m. Prije i tijekom vegetacije primjenjene su sve agrotehničke operacije u intezivnoj proizvodnji kukuruza. Berba je obavljena ručno početkom listopada 2019., a prije i nakon berbe su obavljena sva potrebna mjerenja. U svrhu istraživanja određen je prinos zrna (t ha<sup>-1</sup>), sadržaj vlage zrna u trenutku berbe (%), datum svilanja, hektolitarska masa (kg hl<sup>-1</sup>) i masa 1000 zrna (g) te ostala morfološka svojstva poput visine stabljike (cm), visine klipa (cm), dužine klipa (cm), promjera klipa (mm) i broja redova na klipju. Prinos zrna je određen vaganjem svih klipova pomoću potezne digitalne vage (Kern CH25K50) i preračunat u tone po hektaru, vlaga zrna pomoću digitalnog vlagomjera (Wile 55), a datum svilanja određen je vizualnim pregledom biljaka tijekom vegetacije u trenutku kada je na barem 50 % biljaka po ponavljanju došlo do fenološke faze svilanje. Masa 1000 zrna je određena pomoću brojača zrna Contador (Pfeuffer) nakon čega je obavljeno vaganje uz pomoć digitalne vage (Kern 440 35 A), a hektolitarska masa određena je pomoću digitalne hektolitarske vage (Aqua Matic 5200-A, Perten). Ostala morfološka svojstva određena su jednostavnim mjerenjem i brojanjem svih ispitivanih parametara.

Za potrebe analize vremenskih prilika tijekom vegetacije kukuruza 2019. godine korišteni su podatci s meteorološke postaje Osijek-Klisa Državnog hidrometeorološkog zavoda Republike Hrvatske. Statistička obrada podataka provedena je pojedinačnom analizom varijance uz korištenje F testa, a značajnost razlika između prosječnih vrijednosti ispitivanih čimbenika i tretmana je ocijenjena LSD-om uz pomoć računalnih programa Excel i SAS 9.1.4.

## Rezultati i rasprava

Tijekom vegetacijske sezone kukuruza 2019. godine ukupna količina oborina je bila veća za 35 % uz vrlo povoljan raspored (Tablica 1). Svi mjeseci, osim srpnja, su imali iznadprosječne količine oborina što pozitivno utječe na razvoj biljke, cvatnju, oplodnju i nalijevanje zrna.

Tablica 1. Mjesečne količine oborina i prosječne temperature zraka tijekom vegetacije 2019. godine i višegodišnje prosječne vrijednosti (VGP) 1961.-1990. za meteorološku postaju Osijek

	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	
	Oborine (mm)						Ukupno
2019.	75	119	106	57	83	62	502
VGP	54	59	88	65	59	45	370
Odstupanje %	+38	+101	+20	-12	+40	+38	+35
	Temperature (°C)						Prosjek
2019.	13,2	14,6	23,6	23,3	24,0	18,0	19,5
VGP	11,2	16,5	19,5	21,1	20,3	16,6	17,5
Odstupanje %	+18	-12	+21	+10	+18	+8	+11

Mnogi autori navode kako su upravo iznadprosječne količine oborina značajan čimbenik u postizanju visokih prinosa (Iljkić i sur., 2014., Kovačević i sur., 2016.) dok nedostatak

oborina u kombinaciji s visokim temperaturama uzrokuje pad prinosa (Beillouin i sur., 2020.). U istom razdoblju prosječne temperature zraka su bile više za 11 % u usporedbi s višegodišnjim prosjekom pri čemu su svi mjeseci, osim svibnja, imali iznadprosječne vrijednosti. Iako visoke temperature naročito u fazama cvatnje i oplodnje nisu pogodne, uz dobru opskrbu vodom biljke kukuruza mogu podnijeti njihov negativan učinak.

U provedenom istraživanju prema analizi varijance je utvrđena statistička značajnost za čak osam ispitivanih parametara dok sadržaj vlage zrna u trenutku berbe i visina stabljike nisu bili signifikantni (Tablica 2 i Tablica 3). S obzirom na gotovo idealne uvijete za rast i razvoj kukuruza postignuti su iznimno visoki prosječni prinosi od 15,9 t ha<sup>-1</sup> u usporedbi s prosječnim prinosom na razini Republike Hrvatske koji je bio 9,0 t ha<sup>-1</sup> (DZS, 2020.). Iako su utvrđena značajna variranja između hibrida različite duljine vegetacije nije bilo jasne prednosti pojedinih FAO skupina. Dva najprinosnija hibrida su bila iz srednje rane i kasne FAO skupine što se može objasniti povoljnim vremenskim uvjetima sa stajališta uzgoja kukuruza, odnosno dobrim rasporedom oborina (Tablica 1). Hegyi i Berzy (2009.) su proveli sličan pokus analize prinosa i kvalitete zrna kukuruza ukupno 96 hibrida iz četiri različite skupine dozrijevanja. Prosječno najveći prinosi utvrđeni su kod hibrida FAO skupine 300 (12,95 t ha<sup>-1</sup>) na lokaciji gdje je pala najveća količina oborina, a najmanji na lokaciji gdje je raspored oborina bio neravnomjeran uz povećanu atmosfersku sušu (9,65 t ha<sup>-1</sup>). Autori zaključuju kako su raniji hibridi (FAO 200 i FAO 300) imali najstabilnije prinose u provedenom istraživanju. Razlog nižeg prinosa ranog hibrida u ovom istraživanju (BC323) je posljedica relativno niskog ostvarenog sklopa od 69 000 biljaka po hektaru.

Osim prinosa i vlaga zrna je također važno svojstvo ponajviše zbog formiranja otkupne cijene i skladištenja, a ovisi o utjecaju vremenskih prilika, svojstvu genotipa, roku sjetve, duljini vegetacije i drugo. Iako u istraživanju nije bila signifikantna, najnižu vlagu su ostvarili hibridi kraće vegetacije što je i očekivano (Tablica 2). Općenito, niskoj vlazi zasigurno je doprinijelo i toplo vrijeme koje je u rujnu 2019. bilo za 1,4 °C više od višegodišnjeg prosjeka. Ispitivanje utjecaja različitih FAO grupa na otpuštanje vlage zrna su proveli Jambrović i sur. (2013.) sjetvom 18 hibrida kukuruza. Autori navode kako ranije FAO skupine postižu niže vrijednosti već u prvim rokovima berbe dok je kod ostalih FAO skupina pad vlage iznosio od 0,20 % (FAO 400) do 0,76 % (FAO 700) po danu. Broj dana svilanja kukuruza je također bio signifikantan i očekivan pri čemu su hibridi duže vegetacije trebali veći broj dana. U pogledu hektolitarske mase i mase 1000 zrna utvrđena je statistička značajnost uz određena variranja istih. Općenito, hibridi srednje kasne i kasne vegetacije su pokazali veće vrijednosti ovih parametara što se može djelomično objasniti većim klipovima i krupnijem zrnju.

Tablica 2. Prinos i agronomska svojstva hibrida kukuruza

Hibrid	Prinos (t ha <sup>-1</sup> )	Vlaga (%)	Broj dana do svilanja	Hektolitar (hl kg <sup>-1</sup> )	Masa 1000 zrna (g)
BC323	14,4 c	13,1	68,0 d	71,3 c	297,2 cd
Agram	17,4 a	13,7	68,7 cd	71,4 c	268,3 d
Tesla	14,3 c	13,1	69,0 bc	75,7 a	314,5 bc
BC415	15,1 bc	14,5	69,7 b	73,5 b	336,4 ab
Instruktor	15,9 b	14,3	71,3 a	76,6 a	351,3 ab
Majstor	18,3 a	14,8	71,7 a	75,3 a	361,4 a
<b>Prosjek</b>	<b>15,9</b>	<b>13,9</b>	<b>70</b>	<b>73,96</b>	<b>321,5</b>
LSD <sub>0,05</sub>	1,389	ns	0,838	1,394	38,94

Visina stabljike je u velikoj mjeri uvjetovana vremenskim prilikama jer u uvjetima veće količine oborina, odnosno povoljnije vlage dolazi do jačeg razvoja internodija što ima značaj

u proizvodnji na primjer silažnog kukuruza. U provedenom istraživanju visina stabljike nije bila statistički značajna, ali visina klipa je pokazala signifikantnost pri čemu su srednje kasni i kasni hibridi imali niže nasađen klip što predstavlja određenu tolerantnost na polijeganje ukoliko je klip bliže tlu (Tablica 3). Osim glavnih komponenata prinosa, čitav niz morfoloških parametara može imati pozitivne učinke za postizanje viših prinosa. Iako su dužina klipa, promjer klipa i broj redova zrna na klipu imali statističku značajnost na temelju ovog istraživanja nije bilo moguće izdvojiti prednost pojedinih FAO skupina. Tako su na primjer najduži klip imali hibridi iz najranije (BC323) i najkasnije (Majstor) skupine dozrijevanja. Slična zapažanja se mogu uočiti i za ostala svojstva (Tablica 3).

Tablica 3. Morfološka svojstva hibrida kukuruza

Hibrid	Visina stabljike (cm)	Visina klipa (cm)	Dužina klipa (cm)	Promjer klipa (mm)	Broj redova zrna na klipu
BC323	234,4	136,0 a	18,8 ab	46,9 d	16,0 c
Agram	237,8	133,1 a	17,2 c	50,3 ab	18,0 ab
Tesla	239,6	131,7 a	17,8 bc	49,6 bc	18,7 a
BC415	240,1	126,9 ab	17,3 c	51,7 a	19,3 a
Instruktor	231,1	117,0 bc	18,4 bc	48,1 cd	16,7 bc
Majstor	220,5	111,9 c	20,0 a	51,6 a	16,7 bc
<b>Prosjek</b>	<b>233,4</b>	<b>126,1</b>	<b>18,3</b>	<b>49,7</b>	<b>17,6</b>
LSD <sub>0,05</sub>	ns	14,10	1,34	1,67	1,68

## Zaključak

Temeljem provedenog istraživanja utvrđena je statistička značajnost za velik broj svojstava. Izrazito visoki prinosi kukuruza rezultat su vrlo povoljnih agroekoloških uvjeta uzgoja i kvalitetnog izbora hibrida. Hibrid Majstor je pokazao određene dominantnost u čak pet važnih parametara (prinos, hektolitar, masa 1000 zrna, dužina klipa i promjer klipa). Iako su utvrđena variranja svih parametara između FAO skupina jedna godina istraživanja nije dovoljna za precizniju preporuku. Međutim, za postizanje stabilnih prinosa po godinama najbolje je koristiti hibride različite dužine vegetacije u podjednakom omjeru zbog nemogućnosti predviđanja utjecaja godine.

## Napomena

Ovaj rad je napisan na temelju podataka diplomskog rada Ivana Efingerera, studenta diplomskog studija Bilinogojstvo, smjera Biljna proizvodnja Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

## Literatura

- Alina F., Doru Ioan M. (2019). Grain yield maize hybrids from different maturity groups influenced by nitrogen and phosphorus fertilisation. *Scientific Papers. Series A. Agronomy*. 62 (1): 286-292.
- Andrić L., Jambrović A., Plavšić H., Čupić T., Šimić B., Beraković I. (2010). Rezultati novih Os hibrida kukuruza u makropokusima na području Republike Hrvatske. Objavljeno u *Zbornik radova 45. hrvatskog i 5. međunarodnog simpozija agronoma*, Marić S., Lončarić Z. (eds.), 372-376, Osijek, Hrvatska: Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
- Beillouin D., Schauburger B., Bastos A., Ciaï P., Makowski D. (2020). Impact of extreme weather conditions on European crop production in 2018. *Philosophical transactions of the royal society B-biological science*. 375 (1810): 1-12.



- Državni hidrometeorološki zavod (2020). Meteorološki podaci, Klimatološko meteorološki sektor, Državna hidrometeorološka stanica Osijek-Klisa, Zagreb.
- Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske (2020). Statistička izvješća - Poljoprivredna proizvodnja u 2019. <https://www.dzs.hr/>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020). FAOSTAT data base, <http://www.fao.org/faostat/en/#home>
- Hegy Z., Berzy T. (2009). Effect of abiotic stress factors on the yield quantity and quality of maize hybrids. *Cereal Research Communications*. 37 (Supplement): 233-236.
- Iljkić D., Kovačević V., Marković M., Bašić M., Majdančić M. (2014). Variation of maize yield in Croatia and Bosnia and Herzegovina among years with aspect of climatic changes. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences. Special Issue (1)*: 789-792.
- Jambrović A., Šimić D., Brkić I., Zdunić Z., Brkić J., Brkić A. (2013). Različiti intenzitet otpuštanja vlage u različitim FAO grupama kukuruza u 2012. godini. Objavljeno u *Zbornik sažetaka 48. hrvatski i 8. međunarodni simpozij agronoma*, Marić S., Lončarić Z. (eds.), 86-87. Osijek, Hrvatska: Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
- Kovačević V., Radić V., Iljkić D., Jović J., Majdančić M. (2016). Weather conditions in the 2013-2015 growing seasons for maize in Croatia and Bosnia and Herzegovina. *Agrofor international journal*. 1 (2016.): 95-102.
- Kovačević V., Rastija M. (2014). Žitarice, Sveučilišni udžbenik, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
- Krička T., Grubor M., Matia A. (2019). Utjecaj FAO grupe hibrida kukuruza na brzinu otpuštanja vode sušenjem i hranidbenu vrijednost zrna. Objavljeno u *Proceedings of the 47 international symposium actual tasks on agricultural engineering.*, Bilandžija N., Kovačev I. (ed.), 323-332. Zagreb, Hrvatska: Agronomski fakultet u Zagrebu.
- Vozhegova R.A., Lavrynenko Y.O., Glushko T.V. (2014). Productivity of maize hybrids of different FAO groups depending on conditions of irrigation and dosage of fertilizers in the southern steppe of Ukraine. *Agricultural Science and Practice*. 1(3): 62-68.

## **Yield, agronomic and morphological properties of maize from the different FAO groups**

### **Abstract**

The aim of this study was to determine the yield, agronomic and morphological properties of six maize hybrids of different vegetation duration (from FAO 330 to FAO 570). The experiment was set up at the experimental site of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek during 2019 in three replications. The analysis of variance determined the statistical significance for eight examined parameters, including yield. Only the moisture content at the time of harvest and the height of the stem were not significant. In terms of yield, no clear difference was observed between the FAO groups while the hectoliter weight and the weight of 1000 grains were statistically higher in medium early, medium late and late hybrids. Cob height was significantly higher in hybrids of shorter vegetation, while in other morphological traits the advantages of none of the FAO groups were observed.

**Key words:** FAO group, maize, yield, weather characteristics, properties

## IZVORNI ZNANSTVENI RAD

**Primjena mikrobiološkog preparata s ciljem smanjenja mineralne gnojidbe fosforom u proizvodnji soje na kiselom tlu**

Jurica Jović<sup>1</sup>, Suzana Kristek<sup>1</sup>, Daniela Horvat<sup>2</sup>, Ilija Ivanković<sup>3</sup>, Vladimir Zebec<sup>1</sup>, Ivan Romić<sup>3</sup>, Berislav Prakatur<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (jjovic@fazos.hr)

<sup>2</sup>Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>PPK Valpovo d.o.o., A. B. Šimića 27, 31550 Valpovo, Hrvatska

**Sažetak**

Fosfor se u tlu nalazi u dovoljnim količinama, međutim većina ovog elementa je u biljci nepristupačnom obliku što fosfor često čini ograničavajućim faktorom biljne proizvodnje. Cilj ovog rada bio je ispitati mogućnost upotrebe mikrobiološkog preparata s ciljem smanjenja gnojidbe fosforom u proizvodnji soje na kiselom tlu. Najveći prinos soje (2,76 t ha<sup>-1</sup>) te najveća prosječna visina biljaka (96,6 cm) ostvareni su na tretmanu preporučene mineralne gnojidbe (104 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>), najveći sadržaj ulja (23,88 %) i najveći broj mahuna po biljci (44,33) na tretmanu smanjene gnojidbe fosforom za 50 % u odnosu na preporučenu gnojidbu, dok je najveći sadržaj bjelančevina (38,40 %) ostvaren na kontrolnom tretmanu. Između tretmana smanjene gnojidbe fosforom uz korištenje mikrobiološkog preparata i tretmana mineralne gnojidbe prema preporuci nisu ustanovljene statistički značajne razlike promatranih parametara.

**Ključne riječi:** fosfor, soja, gnojidba, mikrobiološki preparat, prinos

**Uvod**

Fosfor pripada u skupinu glavnih esencijalnih elemenata za rast i razvoj biljaka (Lott i sur., 2011.). Iako se njegov sadržaj u tlu kreće između 200 i 800 mg kg<sup>-1</sup> tla, većina ovog elementa nalazi se u biljci nepristupačnom obliku (Blume i sur., 2010.) pa su količine pristupačnog fosfora u dosta slučajeva faktor koji ograničava prinose ratarskih kultura širom svijeta. Kisela tla u Bosni i Hercegovini zauzimaju 2 256 272 ha ili 44,12 % ukupne površine BiH što znatno otežava poljoprivrednu proizvodnju (Marković i sur., 2015.). Uobičajena agrotehnička mjera u takvim uvjetima proizvodnje bila je gnojidba višim dozama mineralnim fosforom. Međutim, u posljednje vrijeme mineralna gnojiva sve više zamjenjuju mikrobiološki preparati koji sadrže mikroorganizme s mogućnošću otapanja fosfata. Tako Hayat i sur. (2010.) navode kako upotreba mikrobioloških inokulanata u svrhu povećanja pristupačnosti hraniva u tlu u zadnja dva desetljeća naglo raste te nudi jeftino rješenje poljoprivrednim proizvođačima. Brojni autori ukazuju na činjenicu da su sojevi bakterija iz rodova *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* i *Enterobacter*, te gljive rodova *Aspergillus* i *Penicillium* najsnažniji fosfor - topivi mikroorganizmi (Wakelin i sur., 2004.).

Cilj ovog rada bio je ispitati mogućnost upotrebe mikrobiološkog preparata s ciljem smanjenja gnojidbe fosforom u proizvodnji soje na kiselom tlu.

**Materijal i metode**

Poljski gnojidbeni postavljen je u jesen 2015. na području općine Odžak (FBiH, BiH) na proizvodnim površinama Dado komerc d.o.o. Na temelju sondažnog izvotka (Lončarić i sur., 2014.) ustanovljeno je kako se radi o močvarno glejnoj amfiglejnoj tipu tla (Škorić, 1977.).

Kemijskom analizom tla utvrđeno je da je tlo kisele pH reakcije ( $pH_{H_2O} = 6,76$ ;  $pH_{KCl} = 5,05$ ), umjereno i umjereno siromašno opskrbljeno kalijem i fosforom (16,99 mg  $K_2O$  100  $g^{-1}$  tla; 12,21 mg  $P_2O_5$  100  $g^{-1}$  tla) te dosta humozno (3,98 %).

Pokus je postavljen prema shemi slučajnog bloknoeg rasporeda u četiri ponavljanja. Površina osnovne parcelice iznosila je 50  $m^2$ . Za provedbu gnojidbe korištena su sljedeća mineralna gnojiva: kalijeva sol – KCl (60 %), monoamonijev fosfat – MAP formulacije 11:52 te kalcij amonijev nitrat – KAN (27 %). Istovremeno korišteni su i mikrobiološki preparati te je tretiranje tla obavljeno Terra Condi (Em-Tehnologija d.o.o., Valpovo, Hrvatska) u koji su dodane tri vrste bakterija iz roda *Pseudomonas* sp. (*P. putida* – ATCC 12633, *P. rhizosphaerae* – DSM 16299 i *P. fluorescens* – ATCC 13525) kao fosfor-topive bakterije u količini od 40 l  $ha^{-1}$ . Gnojidbeni tretmani pokusa (Tablica 1.) bili su sljedeći: 1. Kontrola (K), 2. Kontrola uz primjenu mikrobiološkog preparata (KMP), 3. Smanjena gnojidba fosforom za 50 % (P); 4. Smanjena gnojidba fosforom za 50 % uz primjenu mikrobiološkog preparata (PMP) te 5. Preporučena mineralna gnojidba (PMG).

Tablica 1. Dodana količina ukupnog dušika, fosfora, kalija te mikrobiološkog preparata na pojedinim tretmanima

Tretmani	$K_2O$	$P_2O_5$	N	Mikrobiološki preparat
	$kg\ ha^{-1}$	$kg\ ha^{-1}$	$kg\ ha^{-1}$	$l\ ha^{-1}$
1. K	90	0	0	0
2. KMP	90	0	0	40
3. P	90	52	44	0
4. PMP	90	52	44	40
5. PMG	90	104	44	0

Preporučena gnojidba utvrđena je na osnovi rezultata kemijske analize tla, a smanjena gnojidba fosforom određena je u odnosu na preporučenu optimalnu mineralnu gnojidbu. Mineralna gnojidba obavljena je pomoću rasipača mineralnih gnojiva, dok je za primjenu mikrobiološkog preparata korištena prskalica i sjetvospremač. Mineralna gnojidba primjenjena je kao osnovna i predstjetvena gnojidba, dok je mikrobiološki preparat primijenjen predstjetveno. Sjetva soje obavljena je u proljeće 2016. sa pneumatskom sijačicom Nodet na međuredni razmak od 50 cm. Sijana je srednje rana sorta soje Ika, 0-I grupe zriobe, Poljoprivrednog instituta Osijek. Sjetvena norma iznosila je 120  $kg\ ha^{-1}$ . Zaštita usjeva obavljena je u skladu agrotehničkim mjerama. Žetva je obavljena ručno početkom listopada 2016. Žetvena površina iznosila je 2  $m^2$  te je iz uzorka određen prinos i sadržaj ulja i bjelančevina u zrnu. Sadržaj bjelančevina i ulja određen je u laboratoriju Poljoprivrednog instituta Osijek pomoću Infratec 1241 Grain Analyser (Foss, Danska) uređaja koji radi na principu NIT tehnologije (Near Infrared Transmission). Za određivanje visine biljke te broja mahuna korišten je uzorak od 20 biljaka po metodi slučajnog uzorka. Podaci su statistički obrađeni analizom varijance (ANOVA) pomoću računalnog programa „Microsoft Excel“ i programa SAS 9.4 software package (SAS Institute Inc., NC, USA), a statistički značajne razlike između tretmana utvrđene su F-testom pomoću LSD vrijednosti na razini 0,05.

Na osnovi zabilježenih podataka meteorološke postaje Gradačac tijekom vegetacije 2016. godine te višegodišnjeg prosjeka 1961. – 1990., navedenu godinu možemo označiti kao povoljnu godinu za uzgoj kultura kao što je soja (Tablica 2).

Tablica 2. Meteorološki podaci za postaju Gradačac tijekom vegetacije soje u 2016. godini te višegodišnji prosjek 1961. - 1990.

Postaja	Oborine (mm) i srednje temperature zraka (°C) za 2016. godinu										Σ	X
	Svibanj		Lipanj		Srpanj		Kolovoz		Rujan			
	mm	°C	mm	°C	mm	°C	mm	°C	mm	°C		
Gradačac	107	16,3	52	21,2	130	22,9	60	20,8	73	19	422	20,0
(1961.-1990.)	92	15,9	99	19	86	20,9	74	20,3	65	16,9	415	18,6

## Rezultati i rasprava

Prosječni prinosi zrna soje po tretmanima kretali su se od 2,44 do 2,76 t ha<sup>-1</sup>, s tim da je najniži prinos ostvaren na kontrolnom tretmanu, a najveći na tretmanu gdje je primijenjena mineralna gnojidba prema preporuci. Nadalje, prosječni prinosi na tretmanima uz korištenje mikrobiološkog preparata (KMP i PMP) bili su veći u odnosu na odgovarajuće tretmane bez mikrobiološkog preparata (K i P) za 3,3 %, odnosno 7,1 %. Međutim, nisu utvrđene statistički značajne razlike između pojedinih tretmana iako je razlika između najvećeg i najmanjeg prinosa iznosila 320 kg ha<sup>-1</sup> (Tablica 3). Ostvareni prosječni prinosi zrna soje veći su u odnosu na prosječni prinos soje u desetogodišnjem razdoblju (2009. – 2018.) za Bosnu i Hercegovinu objavljenim na stranicama FAOSTAT-a koji iznosi 1,94 t ha<sup>-1</sup> (FAOSTAT, 2020.). Vratarić i Sudarić (2000.) navode kako su razlike u urodu zrna soje između pojedinih sorata uvjetovane razlikama u genetičkoj osnovi, a unutar sorte, razlike uroda su uvjetovane utjecajem okoline.

Tablica 3. Utjecaj tretmana na prinos, visinu biljke, broj mahuna po biljci te kakvoću zrna soje

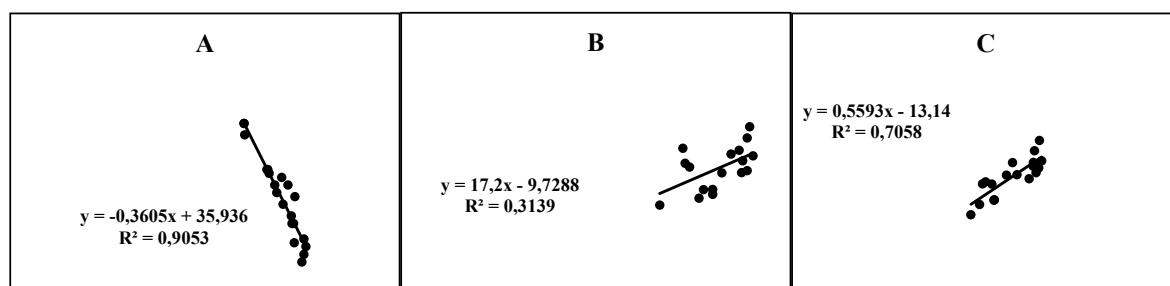
Tretman	Prinos (t ha <sup>-1</sup> )	Visina biljke (cm)	Broj	Ulje (%)	Bjelančevine (%)
			mahuna po biljci		
K	2,44	78,1 C	30,03 B	21,83 B	38,40 A
KMP	2,52	73,9 C	28,53 B	22,40 B	37,25 AB
P	2,54	89,1 B	44,33 A	23,88 A	33,93 B
PMP	2,72	95,0 AB	34,28 AB	23,83 A	33,85 B
PMG	2,76	96,6 A	42,18 A	23,00 AB	36,20 AB
<b>Prosjek pokusa</b>	<b>2,60</b>	<b>86,5</b>	<b>35,86</b>	<b>22,99</b>	<b>35,93</b>
LSD 5%	ns	6,6636	10,756	1,2034	3,6985

Tretmani: 1. Kontrola (K), 2. Kontrola uz primjenu mikrobiološkog preparata (KMP), 3. Smanjena gnojidba fosforom za 50 % (P); Smanjena gnojidba fosforom za 50 % uz primjenu mikrobiološkog preparata (PMP) te preporučena mineralna gnojidba (PMG).

Najveća prosječna visina biljaka (96,6 cm) ostvarena je također na tretmanu gdje je primijenjena mineralna gnojidba usjeva prema preporuci, dok je najmanja prosječna visina biljaka (73,9 cm) ostvarena na kontrolnom tretmanu bez mineralne gnojidbe dušikom i fosforom uz korištenje mikrobiološkog preparata. Nadalje, utvrđene su statistički značajne razlike kontrolnih tretmana (K i KMP) u odnosu na ostale tretmane (P, PMP i PMG) te između tretmana sa smanjenom količinom fosfora (P) i tretmana gdje je mineralno gnojivo aplicirano prema preporuci (PMG). Najmanji broj mahuna po biljci (28,53) također je utvrđen na kontrolnom tretmanu uz korištenje mikrobiološkog preparata (KMP), a najveći (44,33) na tretmanu smanjene gnojidbe fosforom (P). Statistički značajne razlike

promatranog parametra utvrđene su kod oba kontrolna tretmana (K i KMP) u odnosu na tretmane smanjene gnojidbe fosforom (P) i tretmana mineralne gnojidbe prema preporuci (PMG) (Tablica 3).

Grafikon 1.C. ukazuje na vrlo visoku povezanost ( $r = 0,8401$ ) visine biljke i broja mahuna po biljci, dok grafikon 1.B. ukazuje na značajnu povezanost ( $r = 0,5594$ ) visine biljke i prinosa zrna soje. Dobiveni rezultati u skladu se s navodima autora Vratarić i Sudarić (2000.) koji tvrde kako su među najvažnijim komponentama uroda zrna soje, pored broja biljaka po jedinici površine, visina biljke te broj mahuna po biljci.



Grafikon 1. Prikaz povezanosti između (A) sadržaja ulja (%) i sadržaja bjelančevina (%), (B) visine biljaka (cm) i prinosa zrna soje ( $t\ ha^{-1}$ ) te (C) visine biljaka (cm) i broja mahuna po biljci

Najmanji sadržaj ulja je utvrđen na kontrolnom tretmanu (K), a iznosio je 21,83 %, dok je najveći sadržaj od 23,88 % utvrđen na tretmanu smanjene gnojidbe fosforom (P). Ustanovljene su statistički značajne razlike kontrolnih tretmana (K i KMP) u odnosu na tretmane smanjene gnojidbe fosforom (P i PMP). Suprotno tome, najveći sadržaj bjelančevina od 38,40 % ostvaren je na kontrolnom tretmanu, dok je najmanji sadržaj bjelančevina od 33,85 % ostvaren na tretmanu smanjene gnojidbe fosforom uz primjenu mikrobiološkog preparata (PMP). Za sadržaj bjelančevina ustanovljene su statistički značajne razlike kontrolnog tretmana (K) u odnosu na oba tretmana smanjene gnojidbe fosforom (Tablica 3). Primjena mineralne gnojidbe dušikom rezultirala je povećanjem sadržaja ulja te smanjenjem sadržaja bjelančevina u zrnu soje što se podudara s navodima Purcell i sur. (2004.). Oni u svom istraživanju tvrde kako je, u godini s povoljnim vremenskim uvjetima za proizvodnju soje, primjena dušičnog gnojiva utjecala na smanjenje sadržaja bjelančevina te povećanje sadržaja ulja u zrnu u odnosu na kontrolni tretman bez gnojidbe dušikom. Nadalje, utvrđena je vrlo visoka negativna povezanost ( $r = -0,9515$ ) sadržaja ulja i sadržaja bjelančevina u zrnu soje (Grafikon 1.A.) što je u skladu s navodima drugih autora (Chun i sur., 2003.) koji su u svom istraživanju također utvrdili vrlo visoku negativnu povezanost ( $r = -0,899$ ) sadržaja ulja i bjelančevina u zrnu soje.

Na osnovi svih promatranih parametara nisu utvrđene statistički značajne razlike između tretmana smanjene gnojidbe fosforom uz korištenje mikrobiološkog preparata (PMP) i tretmana (PMG) gdje je primijenjena mineralna gnojidba dušikom i fosforom prema preporuci (Tablica 3). Ye i sur. (2020.) navode kako uz primjenu mikroorganizma postoji mogućnost smanjenja mineralne gnojidbe do 50% bez utjecaja na prinos.

## Zaključak

Na navedenom tipu tla uz prikazane vremenske prilike tijekom vegetacije usjeva, smanjenje gnojidbe fosforom za 50 % uz primjenu mikrobiološkog preparata nije statistički značajno utjecalo na razlike promatranih parametara u odnosu na tretman preporučene mineralne gnojidbe.

## Literatura

- Blume H.P., Brümmer G.W. Horn R., Kandeler E., Kögel-Knabner I., Kretschmar R., Stahr K., Wilke B.M. (2010). Scheffer/Schachtschabel: Lehrbuch der Bodenkunde; 16. Aufl. 2010, XIV, 570 S., Springer Spektrum.
- Chung J., Barka H. L., Staswick P. E., Le D. J., Gregan P. B., Shoemaker R. C., Specht J. E. (2003). The seed protein, oil and yield QTL on soybean linkage group I. *Crop Sciences*. 43: 1053-1067.
- FAOSTAT, (2020). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [15.10.2020.]
- Hayat R., Safdar Ali S., Amara U., Khalid R., Ahmed I. (2010.). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann Microbiol* 60: 579–598.
- Lončarić Z., Rastija D., Popović B., Karalić K., Ivezić V., Zebec V. (2014). Uzorkovanje tla i biljke za agrokemijske i pedološke analize. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Osijek.
- Lott J. N. A., Kolasa J., Batten G. D., Campbell L. C. (2011). The critical role of phosphorus in world production of cereal grains and legume seeds. *Food Security*. 3: 451–462.
- Marković M., Komljenović I., Kovačević V. (2015). Soil reaction (pH) and status of mobile phosphorus and potassium in Sava valley area of Bosnia and Herzegovina. Proceedings of the 9th International symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH, Osijek. Faculty of Agriculture of University J. J. Strossmayer in Osijek, 2015. str. 28-29.
- Purcell L.C., King C.A. (1996). Drought and nitrogen source effects on nitrogen nutrition, seed growth, and yield in soybean. *J. Plant Nutr.* 19: 949–966.
- Škorić, A. (1977). Tipovi naših tala. Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu. Udžbenici Sveučilišta u Osijeku. Sveučilišna naklada Liber. Zagreb.
- Vrarić M., Sudarić A. (2000). Soja *Glycine max* (L.) Merr. Poljoprivredni institut Osijek, Osijek.
- Wakelin S., Warren R., Harvey P., Ryder M. (2004). Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Biology and Fertility of Soils*. 40: 36-43.
- Ye L., Zhao X., Bao E., Li J., Zou Z., Cao K. (2020). Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality. *Science Reports*. 10: 1-11.

## Possibility of reducing phosphorus fertilization by applying microbial preparation in soybean production on acid soil

### Abstract

Although there is enough phosphorus in the soil, most of this element is found in unavailable forms for plant uptake, which often makes it a limiting factor in plant production. The aim of this study was to examine the possibility of applying microbial preparation in order to reduce phosphorus fertilization in soybean production on acid soil. The highest soybean yield (2.76 t ha<sup>-1</sup>) and the highest average plant height (96.6 cm) were achieved on the treatment of recommended mineral fertilization (104 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>), the highest oil content (23.88%) and the highest number of pods per plant (44.33) on the treatment with reduced phosphorus fertilization by 50%, while the highest protein content (38.40%) was achieved on the control treatment. No statistically significant differences in the observed parameters were found between the treatment of reduced phosphorus fertilization with microbial preparation and the treatment of mineral fertilization according to recommendation.

**Key words:** phosphorus, soybean, fertilization, microbial preparation, yield

## Analiza utjecaja vremenskih prilika i agrotehnike na prinose kukuruza tijekom petogodišnjeg razdoblja

Franjo Nemet, Mirta Rastija, Dario Iljkić, Miro Stošić, Vladimir Zebec, Ivana Varga, Katarina Perić, Zdenko Lončarić

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (franjo.nemet@fazos.hr)*

### Sažetak

Cilj rada je bio utvrditi utjecaj vremenskih prilika i primijenjene agrotehnike na prinose i kvalitetu zrna različitih hibrida kukuruza uzgajanih na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu tijekom petogodišnjeg razdoblja (2012.-2016.). Količine oborine značajno su varirale uz neravnomjernu raspodjelu tijekom vegetacijskih razdoblja, a prosječne temperature su bile više u odnosu na referentni prosjek, osobito u ljetnim mjesecima u najosjetljivijim fazama razvoja. Postignut je visok prosječan prinos od 9,7 t ha<sup>-1</sup>, a variranje prinosa po godinama rezultat je različitih vremenskih prilika. Najniži prinos zrna ostvaren je u vrlo sušnoj i iznadprosječno toploj 2012. godini (7,3 t ha<sup>-1</sup>), a najviši (13,4 t ha<sup>-1</sup>) 2016. zbog vrlo povoljnih vremenskih prilika i kvalitetnije gnojidbe.

**Ključne riječi:** kukuruz, vremenske prilike, agrotehnika, prinos

### Uvod

Kukuruz se uzgaja u cijelom svijetu na značajnim površinama te je uz pšenicu i rižu najdominantnija kultivirana biljka na svjetskim oranicama (FAOSTAT, 2021.). Iako je u Republici Hrvatskoj uočen blagi pad proizvodnih površina pod žitaricama, kukuruz i dalje zauzima najznačajnije mjesto (Iljkić i sur., 2019.). Prema podacima Državnog zavoda za statistiku u petnaestogodišnjem razdoblju (2003. - 2017.) kukuruz se prosječno uzgajao na 288 727 ha odnosno na oko trećini oraničnih površina uz prosječan prinos od 6,5 t ha<sup>-1</sup> (Statistički ljetopis, 2018.), a u ukupnoj proizvodnji značajan je udio obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava. Prinos zrna jako ovisi o agroekološkim uvjetima, primijenjenoj agrotehnici ali i genotipu tj. svojstvima pojedinih hibrida. Iako se Hrvatska nalazi u optimalnom uzgojnom području kukuruza nepovoljne vremenske prilike, odnosno nepravilan raspored oborina, duža sušna razdoblja uz visoke temperature zraka, osobito u osjetljivim fazama cvatnje, oplodnje i formiranja zrna negativno utječu na rast i razvoj kukuruza i postizanje visokih prinosa (Rastija i sur., 2012., Kovačević i sur., 2012.). U nepovoljnim godinama pravilno primijenjena agrotehnika je vrlo važna mjera koja može ublažiti negativan utjecaj abiotičkih i biotičkih činitelja na razvoj biljaka, odnosno prinos. Cilj rada je bio prikazati tehnologiju uzgoja kukuruza tijekom petogodišnjeg razdoblja (2012. – 2016.) na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu te utvrditi utjecaj vremenskih prilika i primijenjene agrotehnike na prinose i kvalitetu zrna različitih hibrida kukuruza.

### Materijal i metode

Za potrebe analize proizvodnje kukuruza korišteni su interni podaci OPG-a na temelju čega su obrađeni podaci o veličini obradivih površina, predusjevima, ostvarenom sklopu i provedenim agrotehničkim mjerama (obrada tla, gnojidba, sjetva, njega usjeva i žetva). Prinos zrna dobiven je preračunom požnjevene površine i postignute odvage zrna prilikom otkupa te je izražen na bazi 14 % vlage. Uzgajani su različiti hibridi FAO skupina 300, 400 i 500. Od ukupno zasijanih

površina tijekom petogodišnjeg razdoblja na 56 % površina su uzgajani hibridi kukuruza sjemenske kuće Pioneer, na 17 % Dekalb hibridi, na po 11 % hibridi Syngenta i KWS, a na 8 % površina su uzgajani hibridi Poljoprivrednog instituta Osijek. Analiza vremenskih prilika bazirana je na srednjim mjesečnim temperaturama zraka i ukupnim mjesečnim količinama oborine tijekom vegetacijskog razdoblja (travanj-listopad) od 2012. do 2016. godine u usporedbi s referentnim višegodišnjim prosjekom 1961.–1990. (VGP). U tu svrhu korišteni su službeni podaci Državnog hidrometeorološkog zavoda Republike Hrvatske meteorološke postaje Osijek koja je udaljena oko 15 km zračne linije od sjedišta OPG-a.

## Rezultati i rasprava

Tijekom petogodišnjeg razdoblja količine oborina značajno su varirale uz neravnomjernu raspodjelu tijekom vegetacijskog razdoblja (Tablica 1), a prosječne temperature su bile više u odnosu na referentni višegodišnji prosjek u svih pet godina, pri čemu je najveće odstupanje zabilježeno u srpnju i kolovozu 2012. i 2015. godine (Tablica 2).

Tablica 1. Mjesečne količine oborina (mm) u vegetacijskom razdoblju 2012. -2016. i višegodišnje prosječne vrijednosti (1961.-1990.), meteorološka postaja Osijek

Godina	2012.	2013.	2014.	2015.	2016.	VGP
Travanj	47,3	44,7	81,3	12,9	39,8	53,8
Svibanj	93,5	118,9	159,4	113,4	63,1	58,5
Lipanj	67,9	63,2	91,0	17,0	99,2	88,0
Srpanj	47,8	36,5	66,4	25,6	110,8	64,8
Kolovoz	4,0	32,9	54,3	105,8	72,1	58,5
Rujan	32,3	129,0	68,9	41,1	42,5	44,8
Listopad	65,4	52,3	87,9	140,4	60,8	41,3
<b>Prosjeck</b>	<b>358,2</b>	<b>477,5</b>	<b>609,2</b>	<b>456,2</b>	<b>488,3</b>	<b>409,7</b>

Tablica 2. Srednje mjesečne temperature zraka (°C) u vegetacijskom razdoblju 2012. – 2016. i višegodišnje prosječne vrijednosti (1961.-1990.), meteorološka postaja Osijek

Godina	2012.	2013.	2014.	2015.	2016.	VGP
Travanj	12,5	13,1	13,2	12,1	13,1	11,3
Svibanj	16,9	16,7	16,1	17,8	16,5	16,5
Lipanj	22,5	20,0	20,4	20,8	21,0	19,5
Srpanj	24,8	22,9	21,8	24,6	22,8	21,1
Kolovoz	24,1	22,9	20,8	23,7	20,6	20,3
Rujan	18,9	15,9	17,0	17,9	18,1	16,6
Listopad	12,1	13,7	13,3	11,2	10,4	11,2
<b>Prosjeck</b>	<b>18,8</b>	<b>17,9</b>	<b>17,5</b>	<b>18,3</b>	<b>17,5</b>	<b>16,6</b>

Jedan od najvažnijih čimbenika koji može ograničiti prinos zrna kukuruza je dostupnost vode (Garcia i sur., 2009.). Međutim, razumijevanje utjecaja nedostatka vode na prinos zrna kukuruza zahtjeva poznavanje potreba kukuruza za vodom u pojedinim fenološkim fazama (Harrison i sur., 2014.). Najniža potreba za vodom (približno 100 mm) je u početnoj fazi razvoja, a najveća (150 - 200 mm) u razdoblju cvatnje, oplodnje i formiranja klipa. Tijekom sazrijevanja zrna potrebe za vodom se smanjuju i iznose 50 - 100 mm (Rosa i sur., 2016.). Sa stajališta uzgoja kukuruza, najnepovoljnija godina je bila 2012. zbog ispodprosječne količine oborina i iznadprosječnih temperatura zraka. Naročito ekstremni uvjeti bili su



tijekom kolovoza jer su količine oborina bile manje za oko 90 %, a prosječne temperature zraka veće za čak 3,8 °C. S druge strane, tijekom 2014. izrazito velike količine oborina uz pravilnu distribuciju tijekom vegetacije, kao i povoljnije prosječne temperature zraka čine ovu godinu vrlo povoljnom za uzgoj kukuruza.

U istraživanom razdoblju u strukturi sjetve su bili zastupljeni različiti ratarski usjevi, a kukuruz se svake godine uzgajao na 15 ha (28 % površina) pri čemu se vodilo računa o plodoredu. Prednosti uzgoja kukuruza u plodoredu su višestruke, a temeljne su očuvanje kvalitete tla i smanjena uporaba kemijskih sredstava (Liebman i sur., 2001.), odnosno smanjena je pojava korova i do 50 % (Ciontu i sur., 2011.). Predusjevi su bile strne žitarice, soja, suncokret i lucerna pa je obrada tla obavljena ovisno o pretkulturi. Za odvijanje normalnih fizioloških aktivnosti biljke u svim njenim fazama rasta i razvoja jedan od najbitnijih čimbenika je ishrana mineralnim gnojivima (Kozhukhov i sur., 2020.). Iako bi gnojidbu trebalo obavljati na osnovi analize tla, na oranicama gospodarstva gnojidba je provedena na temelju višegodišnjeg iskustva. Uglavnom su korištene manje količine od preporučenih što je u praksi čest slučaj zbog visoke cijene koštanja mineralnog gnojiva. Tijekom prve četiri godine gnojidba je bila vrlo slična, a sastojala se od osnovne gnojidbe s NPK 15-15-15 u količini od 400 do 450 kg ha<sup>-1</sup> i ureje u količini od 50 do 100 kg ha<sup>-1</sup>. Predsjetvena gnojidba provedena je također s NPK 15-15-15 u količini od 100 kg ha<sup>-1</sup> i urejom u količini od 50 kg ha<sup>-1</sup>. Jedino je 2016. godine korištena formulacija NPK 0-20-30, odnosno dodana je veća količina svih hraniva (Tablica 3.). Prihrane su provedene, ovisno o godini, u jednom ili dva navrata u količini od 50 do 100 kg ha<sup>-1</sup> s KAN-om.

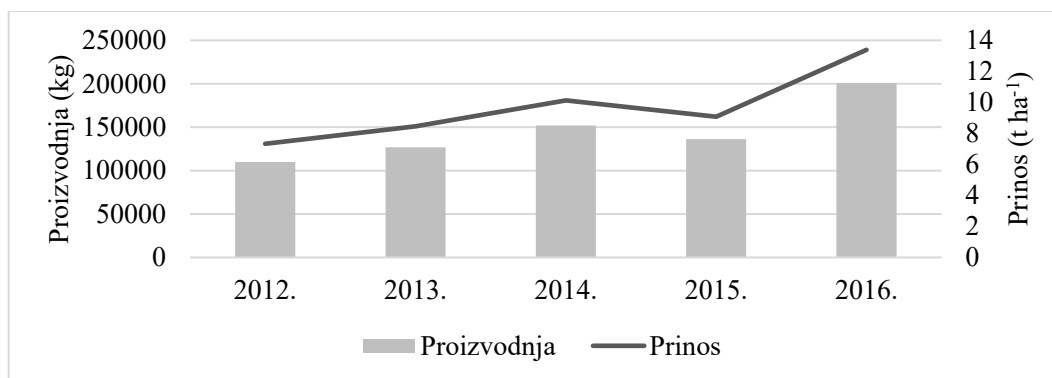
Tablica 3. Ukupna količina hraniva tijekom analiziranog razdoblja (kg ha<sup>-1</sup>)

Hranivo	2012.	2013.	2014.	2015.	2016.	Prosjek
N	157,5	136	155,5	149,5	188	157,3
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	75	75	82,5	75	120	85,5
K <sub>2</sub> O	75	75	82,5	75	180	97,5

Sjetva kukuruza je obavljena u optimalnim agrotehničkim rokovima, od 13. do 25. travnja, ovisno o godini. Optimalni rokovi sjetve vrlo su važni zbog dovoljno vlage u tlu potrebne za nicanje kukuruza. Sjetva je obavljena na međuredni razmak 70 cm i razmak u redu 21 do 25 cm u skladu s preporukama proizvođača sjemena te na dubinu 4 – 6 cm ovisno o vlazi tla. Uvjeti za nicanje su bili uglavnom povoljni zbog relativno dovoljne količine oborina osim 2015. kada je u travnju palo svega 13 mm kiše (Tablica 1) što je rezultiralo slabijim nicanjem. Od mjera njege sustavno se provodila zaštita od korova te međuredna kultivacija u jednom ili dva navrata. Žetva kukuruza obavila se od sredine listopada do sredine studenoga ovisno o FAO skupini, vlazi zrna i vremenskim uvjetima neposredno prije žetve.

Prosječan prinos zrna iznosio je 9,68 t ha<sup>-1</sup> uz variranje od 7,33 t ha<sup>-1</sup> (2012.) do 13,39 t ha<sup>-1</sup> (2016.), dok je istovremeno ukupna proizvodnja bila između 109 950 kg i 200 850 kg (Grafikon 1). Općenito, tijekom istraživanog razdoblja na OPG-u su postignuti viši prinosi u odnosu na prosječne prinose na državnoj razini. Uspjeh proizvodnje kukuruza značajno ovisi o vremenskim prilikama u vegetacijskom razdoblju što pokazuju i prinosi kroz promatrano razdoblje. Razlika između najvišeg prinosa 2016. godine i najnižeg prinosa 2012. godine iznosila je čak 6,06 t ha<sup>-1</sup> što je gotovo 50 %. Analizom dvije klimatološki različite godine Kovačević i sur. (2009.) su utvrdili gotovo 40 % niže prinose u nepovoljnijoj godini što je objašnjeno manjom količinom oborina i značajno višom prosječnom temperaturom zraka. Glavni razlozi relativno visokih prinosa tijekom 2016. su izuzetno povoljna količina i distribucija oborina, naročito u lipnju i srpnju kada kukuruz prolazi kroz

kritične faze rasta i razvoja, a s druge strane veća količina mineralnih gnojiva dodatno je utjecala na odličan rezultat. Posljedica nedostatka vode uz istovremeno visoke prosječne temperature zraka (razdoblje lipanj-kolovoz) najviše je istaknuta tijekom 2012. godine, što je i utjecalo na najniži prinos. Suša u fazama metličanja, svilanja, cvatnje, formiranju i nalijevanju zrna ima za posljedicu kraći oklasak, nedovršeni klip, kraće nalijevanje, manju masu 1000 zrna te niži prinos (Kovačević i Rastija, 2014.).



Grafikon 1. Ostvarena proizvodnja i prosječni prinosi kukuruza tijekom petogodišnjeg razdoblja

Vlaga zrna je bila iznad optimalne za skladištenje kukuruza pa je dodatno sušenje bilo neophodno. Općenito, u vlažnijim godinama je vlaga zrna bila viša što je i očekivano (Tablica 4). Hektolitarska masa je varirala je unutar uobičajenih vrijednosti. Najviša je ostvarena 2016. godine, a najniža u sušnoj 2012. godini što je na granici optimalne hektolitarske mase za kukuruz.

Tablica 4. Kvaliteta zrna kukuruza tijekom analiziranog razdoblja

	2012.	2013.	2014.	2015.	2016.	Prosjek
Vlaga (%)	16,4	17,6	18,5	16,4	19,5	17,7
Hektolitarska masa (kg hl <sup>-1</sup> )	69,9	78,1	77,5	72,6	79,1	75,4
Primjese (%)	6,9	4,9	5,3	4,9	5,6	5,5

## Zaključak

Utvrđen je relativno visoki prosječni prinos zrna tijekom petogodišnjeg razdoblja, ali uz značajna variranja među godinama. Premda je tehnologija uzgoja kukuruza na gospodarstvu svake godine gotovo jednaka, variranja prinosa su izravna posljedica količine i distribucije oborine u kombinaciji s temperaturama zraka tijekom vegetacijskog razdoblja, što ukazuje na izuzetno velik značaj vremenskih prilika u proizvodnji. Sve agrotehničke mjere su pravilno i pravovremeno provedene. Izuzetak je aplikacija manjih količina mineralnih gnojiva što je čest slučaj u praksi, naročito na manjim obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. Za unapređenje proizvodnje preporuka je napraviti analize tla i gnojidbu temeljiti na rezultatima. Također, sustavno ispitivanje hibrida kukuruza na različitim lokacijama bi omogućilo izbor onih koji pokazuju određenu stabilnost u različitim uvjetima.

## Napomena

Za ovaj rad su korišteni podatci iz diplomskog rada Franje Nemeta „Proizvodnja kukuruza na OPG-u Kate Nemet od 2012. do 2016. godine“, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, 2017.

## Literatura

- Ciontu C., Sandoiu D. I., Penescu A., Gidea M., Obrisca, M. (2011). Research concerning the influence of crop rotation on maize grown on the reddish preluvosoil from Moara Doamneasca. *UASVM Bucharest, A*, 54, 217-222.
- FAO (2021). FAOSTAT data base, <http://www.fao.org/faostat/en/#home>
- Garcia A. G. Y, Guerra L. C., Hoogenboom G. (2009). Water use and water use efficiency of sweet corn under different weather conditions and soil moisture regimes. *Agricultural Water Management*, 96(10), 1369-1376.
- Harrison M. T., Tardieu F., Dong Z., Messina C. D., Hammer G. L. (2014). Characterizing drought stress and trait influence on maize yield under current and future conditions. *Global change biology*, 20(3): 867-878.
- Iljkić D., Kranjac D., Zebec V., Varga I., Rastija M., Antunović M., Kovačević V. (2019). Stanje i perspektiva proizvodnje žitarica i uljarica u Republici Hrvatskoj. *Glasnik zaštite bilja*. 42 (3): 58-67.
- Kovačević V., Rastija M. (2014). Žitarice. Udžbenik. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
- Kovačević V., Rastija M., Brikć J., Iljkić D. (2012.). Uticaj specifičnosti vremenskih prilika u Hrvatskoj 2010. i 2012. na prinos kukuruza, *Agroznanje*, 14(2): 199-207.
- Kovačević V., Šošarić J., Josipović M., Marković M., Iljkić D. (2009). Vremenske prilike 2005. i 2007. g u istočnoj Hrvatskoj sa stajališta uzgoja kukuruza. *Zbornik radova XX Naučno-stručna konferencija poljoprivrede i prehrambene industrije*, Poljoprivredno-prehrambeni fakultet Univerziteta u Sarajevu, Bosna i Hercegovina, 171-178.
- Kozhukhov A., Gurin A., Rezvyakova S. (2020). Main elements of nutrition content in the soil for maize crops, depending on the predecessors and methods of soil treatment. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 161, p. 01103). EDP Sciences.
- Mourtzinis S., Ortiz B. V., Damianidis D. (2016). Climate change and ENSO effects on Southeastern US climate patterns and maize yield. *Scientific reports*, 6(1): 1-7.
- Rastija M., Iljkić D., Kovačević V., Brkić I. (2012.): Weather impacts on maize productivity in Croatia with emphasis on 2011 growing season. *Növénytermelés*, 61:329-332.
- Rosa R., Kosterna-Kelle E., Franczuk J., Zaniewicz-Bajkowska A. (2016). The influence of weather conditions of eastern Poland on sweet corn yields and length of growing season. *Journal of Ecological Engineering*, 17(4).
- Statistički ljetopis Republike Hrvatske (2018.) Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske. Zagreb, URL: [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/ljetopis/2018/sljh2018.pdf](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/ljetopis/2018/sljh2018.pdf)

## Analysis of weather conditions and agrotechnique impact on the maize grain yield during a five-year period

### Abstract

The aim of this study was to determine the impact of weather conditions and applied agricultural techniques on grain yields and quality of different maize hybrids grown on a family farm during a five-year period (2012-2016). Rainfall amounts varied significantly with uneven distribution during vegetation periods, and average temperatures were higher than the multi-year average, especially in the summer months during the most sensitive stages of development. A high average yield of 9.7 t ha<sup>-1</sup> was achieved, and the variation of yield by years is the result of different weather conditions. The lowest grain yield was achieved in a very dry and above-average warm year 2012 (7.3 t ha<sup>-1</sup>), and the highest in 2016 (13.4 t ha<sup>-1</sup>), due to very favorable weather conditions and better fertilization.

**Key words:** maize, weather conditions, agricultural techniques, yield

## Pojavnost ergot alkaloida u raži u Republici Hrvatskoj

Jasenska Petrić<sup>1</sup>, Michael Sulyok<sup>2</sup>, Karolina Vrandečić<sup>3</sup>, Rudolf Krska<sup>2,4</sup>, Bojan Šarkanj<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Centar za sigurnost hrane, I. Gundulića 36b, Osijek, Hrvatska (jasenska.petric@hapih.hr)

<sup>2</sup>Institute of Bioanalytics and Agro-Metabolomics, Department of Agrobiotechnology (IFA-Tulln), University of Natural Resources and Life Sciences Vienna (BOKU), Konrad Lorenz Str. 20, A-3430 Tulln, Austrija

<sup>3</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska

<sup>4</sup>Institute for Global Food Security, Advanced ASSET Centre, School of Biological Sciences, Queen's University Belfast, Sjeverna Irska, Ujedinjeno Kraljevstvo

<sup>5</sup>Sveučilište Sjever, Sveučilišni centar Koprivnica, Odjel za prehrambenu tehnologiju, Trg dr. Žarka Dolinara 1, Koprivnica, Hrvatska

### Sažetak

Cilj ovog rada bio je utvrditi pojavnost ergot alkaloida u raži u Republici Hrvatskoj (RH) i utjecaj načina proizvodnje raži (konvencionalan ili ekološki) na njihovu pojavnost. Ovim istraživanjem obuhvaćeni su svi ekološki i konvencionalni proizvođači raži u RH u 2016. godini. Uzorci neobrađene raži analizirani su LC-MS/MS metodom na najznačajnije EA i njihove epimere. Rezultati analiza pokazali su najčešće prisustvo ergometrina te ergokristina, ergokristinina, ergozina i ergozinina. Prisustvo bar jednog EA utvrđeno je u 66,7 % uzoraka ekološki proizvedene raži i 71,4 % uzoraka konvencionalno proizvedene raži. Rezultati provedenih analiza upućuju na zaključak kako način proizvodnje raži ne utječe na pojavnost EA.

**Ključne riječi:** ergot alkaloidi, raž, LC-MS/MS

### Uvod

Ergot alkaloidi (EA) su produkti gljivica raznih rodova od kojih je u Europi najrasprostranjenija vrsta *Claviceps purpurea*. Najčešće kontaminiraju žitarice i proizvode od žitarica, posebice raž i proizvode od raži. U oboljeloj biljci, umjesto zdravih zrna formiraju se crne srpaste tvorevine (tzv. sklerocij) koji u sebi sadržava EA-e (EFSA, 2017., Tittlemier i sur., 2019.). Do danas je poznato više od 50 EA, a od posebnog značaja su: ergometrin, ergotamin, ergozin, ergokristin, ergokriptin, ergokornin i njihovi odgovarajući epimeri. Fiziološki učinci EA poznati su od davnina kada je, uslijed konzumacije kontaminiranih žitarica i njihovih proizvoda dolazilo do pojave čestih masovnih trovanja. Konzumacija manje količine kontaminiranih žitarica uzrokuje probavne smetnje dok veće količine mogu uzrokovati teški oblik trovanja, poznat kao ergotizam (EFSA, 2012., Likar i sur., 2018.). Tijekom 2010. i 2011. godine, Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA) u suradnji s nekoliko institucija provela je veliko istraživanje o EA-ima u žitaricama i proizvodima od žitarica, pri čemu je ukupno sudjelovalo 13 zemalja Europske unije. Rezultati ovog istraživanja korišteni su kao temelj za procjenu rizika od EA-a (EFSA, 2012.). Iako zaključci procjene rizika nisu upućivali na zabrinutost za zdravlje ljudi i životinja, rezultati istraživanja su ipak ukazali na povećanu prisutnost EA-a u hrani i hrani za životinje. Slijedom navedenog, Europska komisija je 2012. godine, izdala *Preporuka Europske komisije o praćenju prisutnosti EA u hrani i hrani za životinje (2012/154/EU)*.

## Materijal i metode

Ovim istraživanjem obuhvaćeni su svi ekološki i konvencionalni proizvođači raži u RH u 2016. godini, iz 10 hrvatskih županija. Uzorci raži uzorkovani su u skladu s *Uredba Komisije (EZ) br. 401/2006 od 23. veljače 2006. o utvrđivanju metoda uzorkovanja i analize za službenu kontrolu razina mikotoksina u hrani* te su nakon uzorkovanja vizualno analizirani na prisustvo sklerocija. Uzorci od 10 kg u kojima je utvrđeno prisustvo sklerocija homogenizirani su, te je iz te mase odvagano 20 g za analizu na prisustvo 6 najznačajnijih EA i njihovih epimera (ergometrin/ergometrinin, ergotamin/ergotaminin, ergozin/ergozinin, ergokristin/ergokristinin, ergokriptin/ergokriptinin i ergokornin/ergokorninin). Za određivanje EA u raži korištena je validirana LC-MS/MS metoda (Malachová i sur., 2014; Sulyok i sur., 2020), gdje su dostupni svi validacijski parametri. Detekcija i kvantifikacija EA provedena je na uređaju Qtrap 5500 MS/MS sustav (SCIEX, USA), opremljenim s TurboV elektrosprej ionizacijskim (ESI) izvorom (mjereno u pozitivnim i negativnom modu) i UHPLC sustavom serije 1290 (Agilent Technologies, Njemačka). Kromatografsko razdvajanje provedeno je na reverzno-faznoj koloni Gemini® C18. Za kvalitativnu analizu podataka korišten je softver Analyst version 1.6.3, a za kvantitativnu obradu MultiQuant 3.0.2. softver. Svi podaci statistički su obrađeni u programu *Statistica* 13.1.

## Rezultati i rasprava

Ovim istraživanjem obuhvaćeni su svi ekološki i konvencionalni proizvođači raži u RH u 2016. godini, a analizom rezultata istraživanja utvrđeno je prisustvo bar jednog EA u 66,7 % uzoraka ekološki proizvedene raži i 71,4 % uzoraka konvencionalno proizvedene raži (Tablica 1). Naime, od ukupno 12 EA koji su obuhvaćeni ovim istraživanjem, u četiri uzorka iz konvencionalne proizvodnje (po jedan uzorak iz Osječko-baranjske i Zadarske županije i dva uzorka iz Zagrebačke županije) i dva uzorka iz ekološke proizvodnje (iz Osječko-baranjske i Karlovačke županije) nije detektiran niti jedan EA (Tablica 1).

Također, svi EA kvantificirani su u pet konvencionalno proizvedenih uzoraka raži (po jedan uzorak iz Bjelovarsko-bilogorske, Međimurske i Varaždinske županije te dva uzorka iz Splitsko-dalmatinske županije) i jednom ekološki proizvedenom uzorku (iz Bjelovarsko-bilogorske županije) (Tablica 1). Rezultati analiza raži također su utvrdili najčešće prisustvo ergometrina (70 % uzoraka) te ergokristina, ergokristinina, ergozina i ergozinina (65 %), dok su ergokriptinin, ergometrinin i ergotaminin bili najrjeđe detektirani EA (45%). Usporedbom suma koncentracija pojedinih EA u neobrađenoj raži utvrđena je najviša pojedinačna suma koncentracija kod ergometrina ( $982 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), pa ergozina ( $795 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) i ergokristina ( $545 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Najmanja suma koncentracija detektirana je kod ergotaminina ( $42 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), pa ergometrinina ( $63 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) i ergokorininina ( $91 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) (Tablica 1). Statističkom obradom podataka utvrđeno je da je srednja vrijednost ukupnih EA kod ekološki proizvedene raži bila niža ( $175 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) u odnosu na konvencionalno proizvedenu raž ( $224 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) (Tablica 2). Pojedinačna maksimalna koncentracija EA u ekološki proizvedenoj raži izmjerena je kod ergokriptina ( $68 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), a u konvencionalno proizvedenoj raži kod ergometrina ( $217 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) (Tablica 1). Rezultati provedenih analiza upućuju na zaključak kako način proizvodnje raži ne utječe na pojavnost EA. Međutim, iako su ovim istraživanjem obuhvaćeni svi uzorci raži iz 2016. godine, njihov broj je bio mali, pa bi za donošenje vjerodostojnijeg zaključka trebalo provesti novo istraživanje na reprezentativnijem broju uzoraka. U tom slučaju, istraživanje bi trebalo obuhvaćati osim EA i ostale važnije mikotoksine, sorte raži te vremenske uvjete kako bi se dobila sveobuhvatnija slika.

Tablica 1. Koncentracije pojedinih EA i njihovih epimera ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) u uzorcima neobrađene raži, po županijama

Bř. uzorka	Źupanija	Ergokorni n	Ergokornini n	Ergokristi n	Ergokristini n	Ergokripti n	Ergokriptini n	Ergometri n	Ergometrini n	Ergozin	Ergozinin	Ergotamin	Ergotaminin
1.	Bjelovarsko-bilogorska	16	5	130	46	59	11	217	9	145	50	33	12
2.	Bjelovarsko-bilogorska*	48	12	23	4	66	35	58	5	57	18	3	<LOQ
3.	Bjelovarsko-bilogorska*	30	3	56	18	26	2	43	2	73	23	23	5
4.	Grad Zagreb	<LOQ	<LOQ	9	2	<LOQ	<LOQ	11	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
5.	Ličko-senjska	10	2	37	9	1	<LOQ	9	<LOQ	110	34	4	1
6.	Međimurska	34	9	35	17	28	22	116	6	72	26	61	7
7.	Osječko-baranjska	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
8.	Osječko-baranjska*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
9.	Karlovačka*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
10.	Šplitsko-dalmatinska	50	13	62	46	66	55	221	28	96	50	65	10
11.	Šplitsko-dalmatinska	86	27	27	5	38	11	84	3	33	18	12	1
12.	Šplitsko-dalmatinska*	20	8	<LOQ	<LOQ	68	55	23	1	38	16	<LOQ	<LOQ
13.	Varaždinska	<LOQ	<LOQ	52	6	2	<LOQ	18	<LOQ	28	8	11	1
14.	Varaždinska	20	6	22	12	20	4	85	7	46	15	13	3
15.	Varaždinska	14	3	13	2	7	<LOQ	7	<LOQ	24	7	<LOQ	<LOQ
16.	Virovitičko-podravska*	<LOQ	<LOQ	53	6	<LOQ	<LOQ	43	<LOQ	47	11	9	2
17.	Zadarska	9	3	26	4	11	2	47	2	26	8	<LOQ	<LOQ
18.	Zadarska	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
19.	Zagrebačka	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
20.	Zagrebačka	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

< LOQ ( $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ )  
\*ekološki proizvedena raŹ

**Tablica 2.** Deskriptivna statistika usporedbe ukupnih EA iz konvencionalne i ekološke proizvodnje raži

Način proizvodnje raži	Broj uzoraka	Srednja vrijednost ukupnih EA $\pm$ SD*	Medijan ukupnih EA	Maksimalna koncentracija EA	Interkvartilni raspon
Konvencionalna	14	224,3 $\pm$ 259,3	133,50	762,0	339,0
Ekološka	6	175,0 $\pm$ 142,0	202,25	329,5	298,0
Ukupno	20	209,5 $\pm$ 227,7	156,25	762,0	310,7

\*standardna devijacija

Postoji vrlo mali broj istraživanja o utjecaju načina proizvodnje žitarica na kontaminaciju žitarica i proizvoda od žitarica EA. Naime, rezultati istraživanja više autora (Lauber i sur., 2005., Malysheva i sur., 2014.) utvrdili su kako način proizvodnje žitarica ima utjecaja na pojavnost EA. Tako su u istraživanju Malysheve i sur. (2014.) koje je obuhvaćalo 342 uzorka žitarica i proizvoda od žitarica izmjerene znatno više koncentracije EA u konvencionalno proizvedenim žitaricama u odnosu na ekološki proizvedene žitarice. Za konvencionalno proizvedene žitarice najveća koncentracija ukupnih EA iznosila je 591 μg kg<sup>-1</sup>, a srednja vrijednost 89 μg kg<sup>-1</sup>, za razliku od ekološki proizvedenih žitarica gdje je zabilježena znatno niža ukupna koncentracija EA (72 μg kg<sup>-1</sup>) i srednja vrijednost od 8 μg kg<sup>-1</sup>. Rezultati ranije provedenog istraživanja (Lauber i sur., 2005.) također su utvrdili znatno više koncentracije EA u konvencionalno proizvedenoj raži u odnosu na ekološki proizvedenu raž. Kao moguće objašnjenje Lauber i sur. (2005.) naveli su kako prema nekim smjernicama udruga koje se bave ekološkom proizvodnjom, hibridne vrste se ne preporučuju/dopuštaju za sjetvu jer su osjetljivije na infekciju *Clavicepsom*.

Međutim, rezultati istraživanja Storm i sur. (2008.) upućivali su na zaključak kako način proizvodnje raži ne utječe na kontaminaciju EA. Njihovo istraživanje obuhvaćalo je 17 uzoraka raženog brašna iz ekološke proizvodnje i 17 uzoraka iz konvencionalne proizvodnje, a EA su detektirani u 94 % analiziranih uzoraka, pri čemu su ergotamin i ergokriptin bili najčešće detektirani EA. Pokazalo se da je raspodjela pojedinačnih EA vrlo varijabilna bez obzira na način proizvodnje jer su neki uzorci sadržavali sve EA, dok su drugi sadržavali samo nekoliko vrsta, što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja. Također, srednja vrijednost ukupnih EA kod ekološki proizvedenih uzoraka raži bila je niža (32 μg kg<sup>-1</sup>) u odnosu na konvencionalno proizvedenu raž (60 μg kg<sup>-1</sup>).

### Zaključak

Rezultati analiza utvrdili su najčešće prisustvo ergometrina (u 70 % uzoraka) te ergokristina, ergokristinina, ergozina i ergozinina (u 65 % uzoraka). Ergokriptinin, ergometrinin i ergotaminin su najrjeđe detektirani EA u raži u RH (u 45 % uzoraka).

Prisustvo bar jednog EA utvrđeno je u 66,7 % uzoraka ekološki proizvedene raži i 71,4 % uzoraka konvencionalno proizvedene raži. Rezultati provedenih analiza upućuju na zaključak kako način proizvodnje raži ne utječe na pojavnost EA.

### Literatura

- EFSA, European Food Safety Authority (2017). Scientific report: Human and animal dietary exposure to ergot alkaloids. EFSA Journal. 15(7): 4902.
- EFSA, European Food Safety Authority 2012. Scientific Opinion on Ergot alkaloids in food and feed. EFSA Journal. 10(7): 2798.

- Lauber U., Schnauffer R., Gredziak M., Kiesswetter Y. (2005). Analysis of rye grains and rye meals for ergot alkaloids. *Mycotox Research*. 21: 258-262.
- Likar M., Grandič M., Jakovac Strajn B., Kos K., Celar F.A. (2018). Links Between Genetic Groups, Host Specificity, and Ergot-Alkaloid Profiles within *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. on Slovenian Grasses. *Plant Disease*. 102 (7): 1334-1340.
- Malachová A., Sulyok M., Beltrán E., Berthiller F., Krska R. (2014). Optimization and validation of a quantitative liquid chromatography – tandem mass spectrometric method covering 295 bacterial and fungal metabolites including all regulated mycotoxins in four model food matrices. *Journal of Chromatography A*. 1362: 145-156.
- Malysheva S.V., Larionova D.A., Di Mavunga D.J., De Saeger S. (2014). Pattern and distribution of ergot alkaloids in cereals and cereal products from European countries. *World Mycotoxin Journal*. 7: 217-230.
- Preporuka Europske komisije od 15. ožujka 2012. o praćenju prisutnosti ergot alkaloida u hrani i hrani za životinje (2012/154/EU). Službeni list Europske unije. L77/20.
- Storm I.D., Rasmussen P.H., Strobel B.W., Hansen H.C. (2008). Ergot alkaloids in rye flour determined by solid-phase cation-exchange and high-pressure liquid chromatography with fluorescence detection. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 25: 338-346.
- Sulyok M., Stadler D., Steiner D., Krska R. (2020). Validation of an LC-MS/MS-based dilute-and-shoot approach for the quantification of > 500 mycotoxins and other secondary metabolites in food crops: challenges and solutions. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 412: 607–2620.
- Tittlemier SA., Drul D., Roscoe M., Turnock D., Taylor D., Fu BX. (2019). Fate of Ergot Alkaloids during Laboratory Scale Durum Processing and Pasta Production. *Toxins*. 11(4): 195.
- Uredba Komisije (EZ) br. 401/2006 od 23. veljače 2006. o utvrđivanju metoda uzorkovanja i analize za službenu kontrolu razina mikotoksina u hrani. Službeni list Europske unije. L 70/12.

## Ergot alkaloids occurrence in rye in Republic of Croatia

### Abstract

Aim of this study was to determine the occurrence of ergot alkaloids in rye from Croatia and influence of the cultivation type (conventional or ecological) on their occurrence. This study includes all organic and conventional rye producers in Republic of Croatia in 2016. Samples of unprocessed rye were analyzed by LC-MS/MS method to the most significant EAs and their epimers. Results of analyzes determined the most common presence of ergometrine, followed by ergocristine, ergocristinine, ergosine and ergosinin. Presence of at least one EA was detected in 66.7% of samples in organically cultivated rye and 71.4% of samples in conventionally cultivated rye. Results of conducted analyzes suggest that the way of cultivation does not affect to the occurrence of EA in rye.

**Key words:** ergot alkaloids, rye, LC-MS/MS



## Koliko mjesto oštećenja na stabljici od kukuruznoga moljca utječe na prinos kukuruza?

Ankica Sarajlić<sup>1</sup>, Ivana Majić<sup>1</sup>, Mirjana Brmež<sup>1</sup> Marko Josipović<sup>2</sup>, Zlatko Puškadija<sup>1</sup>, Marin Kovačić<sup>1</sup>, Emilija Raspudić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (sankica@fazos.hr)

<sup>2</sup>Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, Osijek, Hrvatska

### Sažetak

Kukuruzni moljac (*Ostrinia nubilalis* Hübner) svake godine pravi štete na kukuruзу hraneći se na svim nadzemnim dijelovima biljke. Cilj rada bio je ispitati koliko mjesto napada na stabljici utječe na prinos kukuruza. Poljski pokus je postavljen 2012. godine na Poljoprivrednom institutu u Osijeku. U pokus su uključene različite razine navodnjavanja, dušične gnojidbe te četiri hibrida kukuruza. Disekcijom stabljike utvrđena su najveća oštećenja od gusjenica ispod klipa kukuruza na svim tretmanima. Korelacijskom analizom utvrđena je statistička značajnost između mase klipa i oštećenja stabljike ispod klipa i kod klipa, dok oštećenje iznad klipa nije utjecalo na prinos kukuruza. Iako su utvrđene statističke značajnosti između prinosa i oštećenja od ličinki veza je bila jako slaba što ukazuje da na prinos kukuruza osim ličinki utječu i drugi čimbenici.

**Ključne riječi:** *Ostrinia nubilalis* Hübner, navodnjavanje, dušična gnojidba, hibridi kukuruza, dužina oštećenja stabljike

### Uvod

Kukuruzni moljac (*Ostrinia nubilalis* Hübner) se ubraja u najznačajnije štetnike kukuruza kako u svijetu tako i u Hrvatskoj. Postotak zaraze ovim štetnikom varira iz godine u godinu i uvelike ovisi o vremenskim uvjetima. Koliko vremenski uvjeti utječu na pojavu ovog štetnika dokazuju i brojna istraživanja kojim je u razdoblju od 1971. do 1991. postotak zaraze iznosio 37 % (Ivezić i sur. 1998.) dok se posljednjih godina konstantno bilježi postotak napada između 90-100 % s izuzetkom godina s ekstremnom količinom oborina (Sarajlić i sur. 2017.). Ličinke kukuruznog moljca hrane se na svim nadzemnim dijelovima biljke kukuruza međutim oštećenja na biljkama nisu jednaka na svim dijelovima. Najveće štete pravi ubušujući se u stabljiku i izgrizajući njen sadržaj. Navodnjavanje kukuruza pogoduje ostvarenju višeg prinosa ali kako djeluje na kukuruznog moljca nije do kraja objašnjeno, a dostupni rezultati se često suprotstavljaju (Ucak i sur. 2017., Bagdatli, 2019.). Dušična gnojidba široko je u upotrebi kako bi poboljšala kvalitativna i kvantitativna svojstva biljke, ali su takve biljke više podložne napadu štetnika (Bala i sur., 2018.). Tolerantnost hibrida kukuruza na ovog štetnika se proučava duže vrijeme, ali ovo svojstvo često ne dolazi do izražaja ponavljajući pokuse iz godine u godinu te se smatra da je u izravnoj vezi s nekoliko drugih biotskih i abiotskih čimbenika (Franeta i sur., 2018.). Cilj rada bio je ispitati koliko mjesto napada na stabljici kukuruza od ličinki kukuruznog moljca utječe na prinos kukuruza.

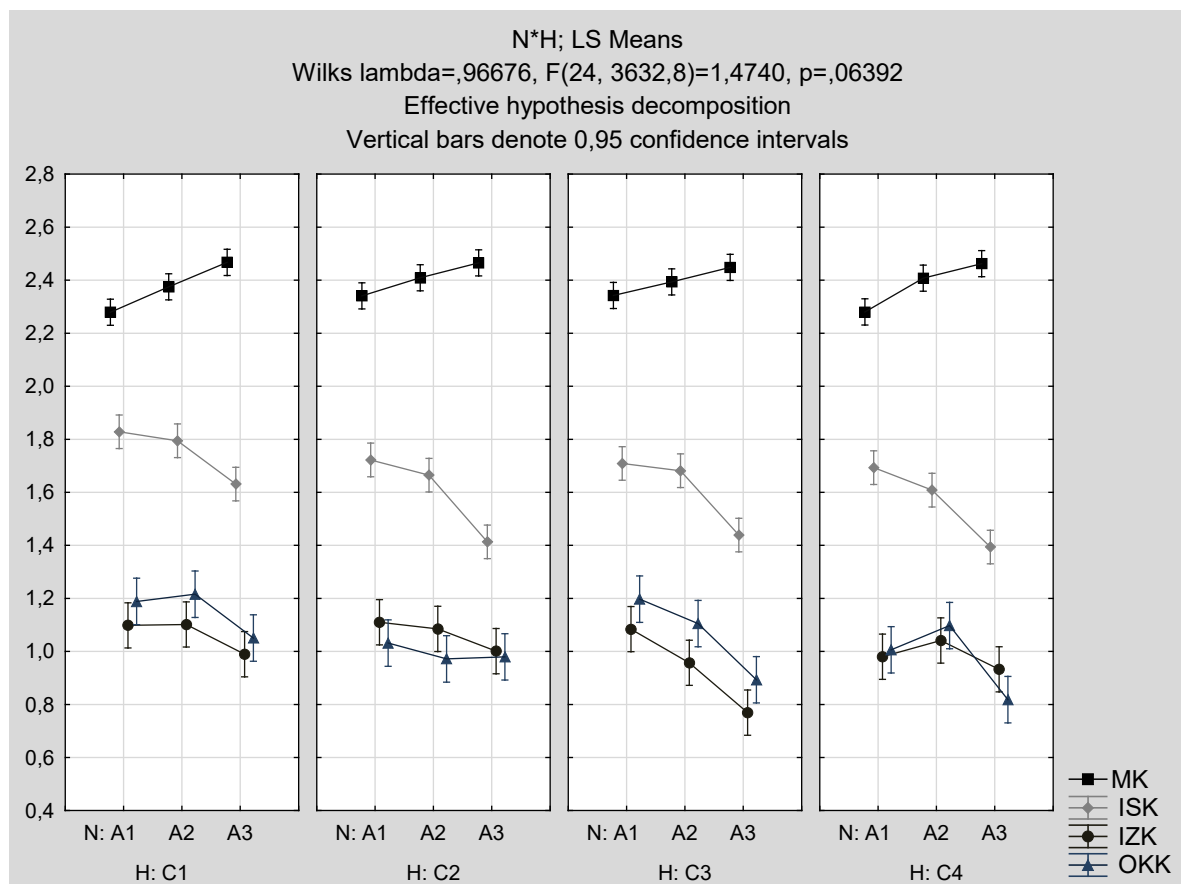
### Materijal i metode

Pokus je postavljen 2012. godine na pokušalištu Poljoprivrednog instituta u Osijeku prema split-split plot shemi u tri ponavljanja. U pokus su bili uključeni tretmani: navodnjavanja

(A1 - prirodne oborine; A2 - 60-100 % poljskog vodnog kapaciteta (PVK); A3 – 80-100 % PVK), gnojidbe (B1 – dušik iz tla, B2 – 100 kg N ha<sup>-1</sup>, B3 – 200 kg N ha<sup>-1</sup>) i četiri različita hibrida kukuruza (C1 – OSSK 596, C2 – OSSK 617, C3 OSSK – 602, C4 – OSSK – 552). Na kraju vegetacije kukuruza (u rujnu) napravljena je disekcija stabljike kukuruza gdje je izvagana masa klipa (MK) i dužina oštećenja biljke od ličinki kukuruznog moljca: ispod klipa (ISK), oštećenje kod klipa, nodij na kojem je klip te jedan nodij ispod i jedan iznad njega (OKK) i iznad klipa (IZK). Disekcija je napravljena na slučajno odabranih 10 biljaka na svakoj varijanti. Ukupno je pregledano i ocijenjeno 1080 biljaka kukuruza. Podatci su obrađeni u programu Statistica 13.5.0.17. (1984-2018 TIBCO Software Inc.). Napravljena je analiza varijance te su vrijednosti testirane Tukey testom. Korelacijskom analizom je utvrđen Spearman-ov koeficijent, a razlike su testirane na 0,05 statističke značajnosti.

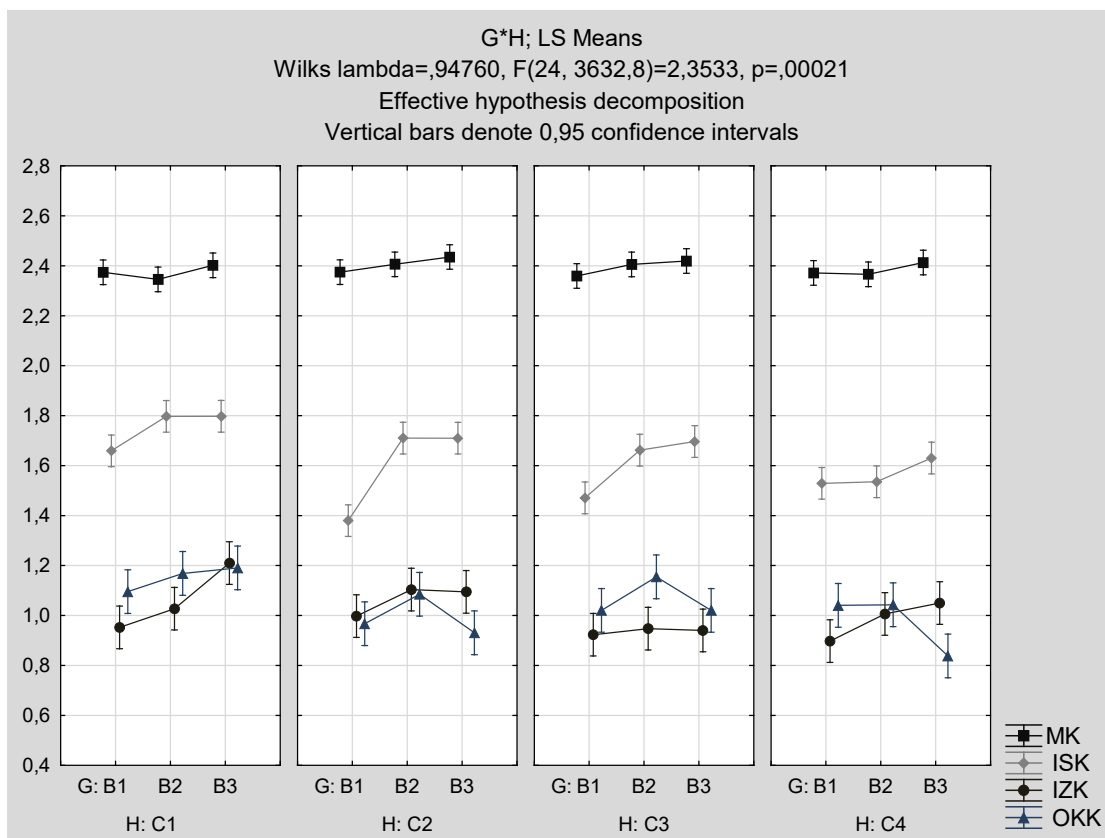
## Rezultati i rasprava

Masa klipa se povećavala s povećanjem razine navodnjavanja, dok su najveća oštećenja utvrđena na varijanti bez navodnjavanja kod svih parametara oštećenja koja su bila i statistički značajna (Grafikon 1). Najveća oštećenja od gusjenica su bila ispod klipa. Dužina oštećenja ispod klipa na varijanti navodnjavanja A1 bila je veća za 37 % u odnosu na varijantu A3. Dužina oštećenja kod klipa i iznad klipa također su bile najveće na varijanti navodnjavanja A1, a najmanje na varijanti A3 i statistički značajne. Slična istraživanja različitih autora su kontradiktorna što ukazuje na činjenicu da oštećenje na biljci uzrokovano ovim štetnikom osim navodnjavanja ovisi i o drugim čimbenicima (Ucak i sur. 2017., Bagdatli, 2019.).



Grafikon 1. Srednje vrijednosti prinosa kukuruza i oštećenja stabljike kukuruza na hybridima kukuruza po varijantama navodnjavanja

Veća razina gnojidbe dušikom rezultirala je većom masom klipa iako povećanje nije bilo linearno, međutim i oštećenja na biljci su se povećala s povećanjem dušične gnojidbe (Grafikon 2). Najveće oštećenje od gusjenica utvrđeno je kao i na varijantama navodnjavanja ispod klipa kukuruza. Varijanta gnojidbe B3 imala je najveće oštećenje, a ono je u odnosu na varijantu B1 bilo veće za 31 %. Oštećenje stabljike kod klipa kukuruza u prosjeku je bilo najveće na varijanti B2 te i statistički značajno. Ove rezultate potvrdili su i drugi autori (Martin i sur. 1989.).



Grafikon 2. Srednje vrijednosti prinosa kukuruza i oštećenje stabljike kukuruza na hybridima kukuruza po varijantama gnojidbe

Veliku pažnju treba posvetiti izboru hibrida kukuruza kod sjetve kako bi se štete od kukuruznog moljca svele na minimum. Neki hibridi imaju određeni stupanj tolerantnosti na napad kukuruznog moljca dajući i dalje visoke, zadovoljavajuće prinose (Raspudić i sur., 2013., Franeta i sur. 2018.). U našem istraživanju hibrid C2 imao je najveću masu klipa u prosjeku, a hibrid C4 najmanju, međutim kod hibrida C2 utvrđena su i velika oštećenja od gusjenica kukuruznog moljca prema svim parametrima oštećenja iz čega se može zaključiti da ovaj hibrid posjeduju određeni stupanj tolerantnost prema napadu ličinki kukuruznog moljca (Grafikon 1 i 2).

Ako analiziramo korelaciju između ispitivanih varijabli možemo primjetiti da je masa klipa u negativnoj korelaciji s oštećenjima od ličinki ispod i kod klipa što je i statistički značajno međutim ta veza je jako slaba iz čega proizlazi da prinos kukuruza ovisi o nizu drugih čimbenika koje je potrebno sve dovesti do optimalnih vrijednosti (Széles i sur. 2018., Kitonyo i sur., 2018.). Oštećenja iznad klipa kukuruza od ličinki nije utjecalo na masu klipa dok su oštećenja ispod klipa u pozitivnoj korelaciji i značajna s onim iznad klipa. Oštećenja kod klipa su u pozitivnoj korelaciji s oštećenjima iznad klipa i ispod klipa iako je ta veza slaba, statistički je značajna (Tablica 1).

Tablica 1. Korelacijski koeficijent između parametara oštećenja od kukuruznog moljca i prinosa kukuruza

Varijable	MK	ISK	IZK	OKK
MK	1,000	-	-	-
ISK	-0,170*	1,000	-	-
IZK	0,042ns	0,142*	1,000	-
OKK	-0,090*	0,242*	0,398*	1,000

MK -masa klipa, ISK – oštećenja od ličinki ispod klipa, IZK – oštećenja od ličinki iznad klipa, OKK – oštećenja od ličinki kod klipa kukuruza

### Zaključak

Zarazu kukuruza s proučavanim štetnikom nije moguće izbjeći, ali uz pravila dobre poljoprivredne prakse ona može bit svedena na minimum. Potrebno je primijeniti optimalnu dušičnu gnojdbu za kukuruz kreiranu prema kemijskim analizama tla i optimalnu količinu vode kako bi se dobio zadovoljavajući prinos s minimalnim oštećenjima od kukuruznog moljca. Tolerantost hibrida kukuruza od iznimne je važnosti ako se optimiziraju i drugi čimbenici koji utječu direktno na napad ovog štetnika.

### Napomena

Istraživanja neophodna za ovaj rad dio su projekta 079-0790570-2208 kojeg je financiralo MZO RH.

### Literatura

- Bağdatlı M.C. (2019). Effects of different irrigation levels on European corn borer (*Ostrinia nubilalis* (Hübner)) populations. PloS ONE. 14(3): e0212595. Raspoloživo: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212595>.
- Bala K., Sood A.K., Pathania V.S., Thakur S. (2018). Effect of plant nutrition in insect pest management: A review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 7(4): 2737-2742.
- Franeta F., Mikić S., Milovac Ž., Mitrović B., Indić D., Vuković S. (2018). Maize defence mechanisms against the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae). International Journal of Pest Management. 65 (1): 23-32.
- Ivezić M., Raspudić E., Mlinarević M., Šamota D. (1998). Suzbijanje kukuruznog moljca (*Ostrinia nubilalis* Hübner) na kukuruzu, biološkim preparatom Biobit XL. Poljoprivreda. 4 (1): 45-49.
- Kitonyo O.M., Sadrasac V.O., Zhou Y., Dentona M.D. (2018). Nitrogen fertilization modifies maize yield response to tillage and stubble in a sub-humid tropical environment. Field Crops Research. 223:113-124.
- Martin, R.C., Arnason, T.J., Lambert, J.D.H., Isabelle, P., Voldeng, H.D., Smith, D.L. (1989.): Reduction of European Corn Borer (Lepidoptera: Pyralidae) Damage by Intercropping Corn with Soybean. Journal of Economic Entomology. 82 (5): 1455-1459. Raspoloživo: <https://doi.org/10.1093/jee/82.5.1455>.
- Raspudić E., Sarajlić A., Ivezić M., Majić I., Brmež M., Gumze A. (2013). Učinkovitost kemijskog suzbijanja kukuruznoga moljca u sjemenskome kukuruzu. Poljoprivreda. 19 (1): 11-15.
- Sarajlić A., Raspudić E., Lončarić Z., Josipović M., Brmež M., Ravlić M., Zebec V., Majić I. (2017). Significance of irrigation treatments and weather conditions on European corn borer appearance. Maydica. 62 (2): 1-8.
- Széles A., Harsányi E., Kith K., Nagy J. (2018). The Effect of Fertilisation and Weather Extremities Caused by Climate Change on Maize (*Zea mays* L.) Yield in Hungary. Journal of Agriculture Food and Development. 4: 1-9.

Ucak A.B., Kaplan C., Inal I., Gencoglan S. (2017). Effects of different irrigation levels on Mediterranean corn borer (*Sesamia nonagrioides* Lefebvre) populations and effects of fatty acids in corn borer preferences. Fresenius Environmental Bulletin. 26 (12A): 8211-8220.

## **How much stalk damage site from the European corn borer affects maize yield?**

### **Abstract**

Every year, the European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hübner), ECB) causes damage by feeding on all aboveground parts of maize plant. The aim of this study was to examine how much the stalk damage site affects maize yield. The field experiment was carried out in 2012 at the Agricultural Institute in Osijek, Croatia. Different levels of irrigation, nitrogen fertilization, and four maize hybrids were included in the experiment. The greatest damage was found under maize ear from the ECB larvae in all treatments. Significantly important, very weak negative correlation was found between ear weight and stalk damage below the ear and at the ear, while the correlation between the damage above the ear and ear weight was very weak and not significant. Although statistical significance was found between yield and larvae damage, it was very weak and indicating that maize yield was more affected by other factors.

**Key words:** *Ostrinia nubilalis* Hübner, irrigation, nitrogen fertilization, maize hybrids, stalk damage

## Primjena herbicida u suncokretu i njihov utjecaj na okoliš

Ivana Varga<sup>1</sup>, Antonela Markulj Kulundžić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Republika Hrvatska

<sup>2</sup>Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, Osijek, Republika Hrvatska  
(antonela.markulj@poljinos.hr)

### Sažetak

Herbicidi su kemijska sredstva koja suzbijaju ili zaustavljaju rast tretiranih biljaka pomoću selektivnog ili totalnog djelovanja. Oni sadrže brojne kemijske spojeve koji različitim mehanizmima djeluju na suzbijanje nepoželjnih biljnih vrsta. Iako suncokret ima dobre kompetitivne sposobnosti, korovi mu, ovisno o njihovom rastu i razvoju, mogu nanijeti značajnu štetu. Odgovarajuća primjena herbicida olakšava žetvu i povećava urod suncokreta dok njihovom neadekvatnom upotrebom nastaju zagađenja okoliša i biljaka koja se preko hranidbenog lanca dalje unose u organizme životinja i ljudi. Najčešća oštećenja od herbicida izazivaju rezidue herbicida primijenjenog u prethodnoj kulturi, zanošenje herbicida prilikom tretiranja obližnjih polja, sama kontaminacija uređaja za prskanje te rezistentnost korova na primijenjeni herbicid. Nastanak oštećenja na biljkama suncokreta i okolišu možemo spriječiti korištenjem preporučene doze i tehnike aplikacije herbicida kao i odabirom odgovarajućih herbicida. Razumnom upotrebom herbicida utjecat ćemo na očuvanje poljoprivrede te povećati produktivnost i proizvodnju potrebne količine hrane na globalnoj razini.

**Ključne riječi:** *Helianthus annuus*, herbicid, okoliš, sredstva za zaštitu bilja

### Uvod

Herbicidi su kemijska sredstva koja suzbijaju, odnosno zaustavljaju rast neželjenih biljaka (Baličević i Ravlić, 2014.). Ako suzbijaju samo pojedine korove onda posjeduju selektivno djelovanje, a ako suzbijaju sve vrste korova onda se odlikuju totalnim djelovanjem. Prekretnica u zaštiti usjeva od korova bio je početak uporabe sintetičkog auksina, poznatog kao 2,4-D (2,4-diklorfenoksiocena kiselina) u širokoj proizvodnji tijekom 1940-ih. Ovaj herbicid, koji se i dalje često koristi u poljoprivrednoj proizvodnji jer je jeftin, je relativno netoksičan za ljude i životinje, ima selektivni učinak (Moore i sur., 1995.), te je ujedno smanjio potrebu za mehaničkim uništavanjem korova u poljoprivrednim kulturama. Od tada, sve veći broj učinkovitih herbicida, uz pravilnu primjenu agrotehničkih mjera, omogućava proizvođačima u razvijenim zemljama značajno povećanje uroda usjeva, a pritom smanjenje zahtjeva rada i radne snage (Price i Kelton, 2011.). Prije sjetve važna je učinkovita kontrola korova kako korovi ne bi konkurirali biljkama suncokreta za svjetlost, prostor, vlagu u tlu i biljne hranjive sastojke, posebice jer u ranim fazama rasta usjeva rast korova značajno utječe na dostupnost vlage u tlu biljkama suncokreta (Cvejić i sur., 2016.). Primjenom herbicida možemo značajno povećati urode usjeva jer će u suprotnom gust rast korova u usjevu smanjiti urod i njegovu kvalitetu te otežavati žetvu (Baličević i Ravlić, 2014.), povećati vlagu zrna i osjetljivost biljaka suncokreta prema uzročnicima bolesti. Ovisno o vrsti tla, sezoni i intenzitetu zaraze površina korovima, korovi mogu smanjiti urode usjeva uljarica između 20 i 60 % (Gupta i Gupta, 2016.). Cvejić i sur. (2017) navode i do 100 % gubitke uroda osjetljivih genotipova suncokreta na volovod (*Orobancha cumana* Vallr.) koji negativno utječe na rast i razvoj suncokreta uzrokujući razvoj nižih zaraženih biljaka sa

smanjenim promjerom glave suncokreta. Jedan od glavnih razloga manjih uroda suncokreta je nepravilno upravljanje korovima. Iz toga razloga prema nekim autorima nužno je provoditi integrirano gospodarenje korovima koje uključuje uporabu herbicida zajedno s drugim mehaničkim ili fizikalnim ili biološkim metodama suzbijanja (Dubey i sur., 2011.). Međutim, suprotno tom stajalištu, drugi ističu problem konstantne primjene herbicida zbog kojih dolazi do intenzivnog uništavanja i degradacije tala, pri čemu su česta i intenzivna oštećenja usjeva, među kojima su i usjevi suncokreta, nastali neadekvatnom i nestručnom primjenom herbicida. Ovaj problem je potaknuo veliku zabrinutost za okoliš i jedan je od glavnih razloga zbog čega se sve veći broj proizvođača okreće ka održivoj poljoprivredi kako bi što više pridonijeli očuvanju tala i povećanju kvalitete krajnjih proizvoda poljoprivredne proizvodnje. Stoga, oplemenjivači suncokreta imaju u cilju stvarati nove linije i hibride koji će imati bolju toleranciju na okolišne faktore uključujući i veću otpornost na korove (Kaya, 2015).

### Herbicidi u proizvodnji suncokreta

Iako suncokret ima dobre kompetitivne sposobnosti (Pospišil, 2013.), korovi mu mogu nanijeti znatnu štetu, ovisno o njihovom razvoju i zastupljenosti. Jedna od najosjetljivijih faza razvoja suncokreta na prisutnost korova je faza od nicanja do razvoja 4 – 6 pravih listova. Njegova se osjetljivost na prisutnost korova krije u sporom vegetativnom porastu (Baličević i Ravlić, 2014.). Navedeno razdoblje osjetljivosti naziva se kritičnim razdobljem zakorovljenosti suncokreta i predstavlja razdoblje u razvoju kulture u kojoj joj korovi nanose najveću štetu. Za suncokret je specifična primjena herbicida nakon sjetve, a prije nicanja (pre-emergence) i nakon nicanja (post-emergence). Herbicidi koji se koriste nakon nicanja suncokreta imaju ograničeno djelovanje te su dostupni u manjem broju u Republici Hrvatskoj (RH) u odnosu na herbicide koji se primjenjuju prije nicanja. U RH je registriran velik broj herbicida za suzbijanje korova u suncokretu (Tablica 1), a pri izboru je neophodno poznavati korovne vrste, spektar, način i vrijeme primjene, selektivnost prema kulturi, vremenske i zemljišne uvjete (Gadžo i sur., 2011., Pospišil, 2013.). U 2008. godini u RH je bilo registrirano 50 herbicidnih pripravaka na osnovu 21 djelatne tvari za suzbijanje korova u suncokretu (Galzina i Ostojić, 2008.), u odnosu na 2021. godinu kada je dozvoljen znatno manji broj herbicidnih pripravaka, svega 35, sa sličnim brojem djelatnih tvari kao 2008. godine, ukupno njih 19 (Glasnik zaštite bilja, 2021.).

Pravilnim agrotehničkim mjerama možemo spriječiti prekomjerno i neadekvatno korištenje herbicida u suncokretu. Gadžo i sur. (2011.) navode plodored kao organizacijsko ekonomsku i fitosanitetsku metodu, ali i kao metodu kojom sprječavamo pojavu fitotoksičnosti. Plodored se smatra obaveznom mjerom u proizvodnji suncokreta koji se nikako ne smije uzgajati na istoj površini više od jednom u četiri godine. Veliku pažnju treba obratiti na predkulturu, jer pojedine kulture zahtijevaju veće doze herbicida koje reziduama mogu stvarati fitotoksičnost za suncokret. Koliko će neki herbicid ostati u aktivnom obliku u tlu ovisi o svojstvima molekula i okolišnim faktorima. Iz tog razloga Canjuga (2018.) je provela ispitivanje utjecaja rezidua mezotriona na suncokret. Utvrđen je fitotoksičan učinak na biljke suncokreta u svim testiranim dozama ( $1/8$ ,  $1/4$  i  $1/2$  doze) herbicida mezotriona. Nadalje, kako bi se umanjila pojava pojedinih korova u usjevima suncokreta potrebno je pravilno napraviti obradu tla. Provedbom nekemijske metode suzbijanja korova, međuredne kultivacije, jednom ili više puta tijekom vegetacije suncokreta, uništava se veći broj korova. Kultivaciju je neophodno provesti pravovremeno u ranim fazama razvoja suncokreta jer kasnije postoji mogućnost mehaničkog oštećenja biljaka tijelima kultivatora. Međutim, međurednu kultivaciju treba pratiti i primjena herbicida kao nezaobilazna mjera kod intenzivnog uzgoja suncokreta. Preporučena je istovremena primjena kombinacije više herbicida koje će

djelovati kako na širokolisne tako i na uskolisne korove što je i česti primjer u praksi. Narender i sur. (2017) su utvrdili pozitivan učinak različitih djelatnih tvari i njihovih kombinacija na broj zrna, masu 1000 zrna i urod suncokreta u odnosu na kontrolu.

Tablica 1. Popis registriranih herbicida u Republici Hrvatskoj za primjenu u usjevima suncokreta 2021. godine (Glasnik zaštite bilja, 2021.).

Spektar djelovanja	Djelatna tvar	Vrijeme primjene
Jednogodišnji i višegodišnji uskolisni korovi	fluazifop-P, kizalofop-P-etil, kizalofop-P-tefurin, propakizafop, cikloksidim, kletodim	Nakon nicanja (post-emergence)
Jednogodišnji i višegodišnji širokolisni korovi	imazamoks*, tribenuron*, tifensulfuron-metil + tribenuron*	Nakon nicanja (post-emergence)
Jednogodišnji širokolisni korovi	flumioksazin	Nakon nicanja (post-emergence)
Jednogodišnji širokolisni korovi	flumioksazin	Nakon sjetve, a prije nicanja (pre-emergence)
Jednogodišnji uskolisni i širokolisni korovi	aklonifen, oksifluorfen, glifosat, pendimetalin + dimetenamid-P, petoksamid, terbutilazin + S-metolaklor	Nakon sjetve, a prije nicanja (pre-emergence)
Jednogodišnji uskolisni i neke širokolisni korovi	pendimetalin, S-dimetenamid (dimetenamid-P), S-metolaklor	Nakon sjetve, a prije nicanja (pre-emergence)
Jednogodišnji širokolisni i neki jednogodišnji uskolisni korovi	metobromuron, fluorkloridon	Nakon sjetve, a prije nicanja (pre-emergence)

\*Imazamoks – primjenjuje se na IMI tolerantnim hibridima suncokreta; \*Tribenuron – primjenjuje se na tribenuron-metil tolerantnim hibridima suncokreta; \*Tifensulfuron-metil + Tribenuron – primjenjuje se na tribenuron-metil i tifensulfuron-metil tolerantnim hibridima suncokreta

Jedan od trendova u oplemenjivanju suncokreta posljednja dva desetljeća je stvaranje otpornosti genotipova na različite herbicide. Do sada su stvoreni genotipovi suncokreta otporni na grupu herbicida imidazolinona na bazi djelatne tvari imazamoks (IMI tolerantni hibridi) koji predstavlja Clearfield i Clearfield Plus tehnologiju proizvodnje suncokreta i genotipovi suncokreta tolerantni na sulfonil-ureu, tj. tribenuron-metil koji predstavljaju Express Sun tehnologiju proizvodnje herbicid tolerantnih genotipova suncokreta (Kaya, 2015.). Takvi hibridi su sve više zastupljeni na poljoprivrednim površinama (Delchev, 2019.). Toleranciju na navedene herbicide uzrokuje inhibicija acetolaktat sintaze (ALS) ili drugim nazivom acetohidroksi acid sintaza (AHAS). To je enzimatski kompleks koji se nalazi u kloroplastu viših biljaka, a funkcija mu je kataliziranje sinteze aminokiselinskog razgranatog lanca (valina, leucina i izoleucina) uzrokujući herbicidni učinak koji metabolizira herbicide u njihovom neaktivnom obliku (Šćepanović i sur., 2020.). Cvejić i sur. (2016.) navode kako je kreiranje hibrida suncokreta tolerantnih na navedene djelatne tvari omogućilo izbor i korištenje široke palete herbicida za učinkovito suzbijanje korova čime je olakšana borba protiv uskolisnih i širokolisnih korova. Prednosti korištenje herbicid tolerantnih hibrida suncokreta je ekonomska isplativost, jer je potrebna manja količina herbicida, i efikasnost suzbijanja pojedinih jednogodišnjih širokolisnih korova poslije nicanja u usporedbi s konvencionalnim kemijskim mjerama. Ujedno je prednost što nakon primjene takvih sredstava nema ograničenja u sjetvi narednih usjeva (Cvejić i sur., 2016.).



Testiranjem hibrida suncokreta tolerantnih na sulfonil-ureu tj. tribenuron-metil potvrđena je otpornost prema volovodu (*Orobanche cumana* Wallr), rase od A-E i tolerantnosti prema *Phomopsis*-u, hrđi (*Puccinia helianthi*), bijeloj truleži (*Sclerotinia sclerotiorum*). Ujedno su testirani hibridi suncokreta pokazali široku adaptabilnost i visok potencijal rodosti te visok sadržaj ulja u sjemenu (Cvejić i sur., 2016.).

### Utjecaj herbicida na okoliš

Oštećenja na biljkama suncokreta od herbicida javljaju se kod primjene neprimjerene, najčešće prevelike doze herbicida ili pogrešnom stadiju razvoja kultivirane biljke i same korovne vrste, kada se miješaju s pojedinim drugim kemikalijama ili gnojivima, ili se primjenjuju tijekom ekstremnih okolišnih uvjeta. Najčešće oštećenja biljaka suncokreta od herbicida nastaju zbog njihovog zanošenja s drugih polja, rezidualnog djelovanja ostataka herbicida primijenjenih u prethodnoj kulturi te kontaminacije uređaja za prskanje. Prenosnje rezidua herbicida korištenih pri tretiranju usjeva suncokreta često se javlja u hladnim i suhim uvjetima te tlima visoke pH vrijednosti. Iako se Clearfield i Express Sun tehnologije široko koristile pri proizvodnji suncokreta, one uzrokuju određene probleme u proizvodnji. Njihovim korištenjem primijećeni su problemi s reziduama herbicida te njihov učinak na kulturu koja će se iduća uzgajati na toj površini. Ujedno, njihovom primjenom stvara se prijetnja za bijeg gena korova u usjev i usjeva u korov, toleranciji na pojedine korove, toleranciji genotipova suncokreta kao odgovor na herbicide koji inhibiraju ALS te biljke tolerantnih genotipova suncokreta imaju nižu osjetljivost na druge herbicide koji inhibiraju ALS u usporedbi s konvencionalnim hibridima (Kaya, 2015.). Oštećenja biljaka uzrokovana reziduama mogu biti izražena kao abnormalni rast listova, epinastija (povijenost), kloroza, slabiji razvoj korijena, formiranje kalusa, zastoj u rastu i razvoju i/ili uginuće biljke. Također, ekstremne temperature (>25 °C), vlaga i salinitet povećavaju vjerojatnost od oštećenja zbog dodatnih stresnih uvjeta (Baličević i Ravlić, 2014.). Jocić i sur. (2001.) su naveli kako se korištenjem herbicida iz grupe imidazolinona koji se brže razgrađuju u tlu (poput imazamoksa), prilikom uzgoja suncokreta umanjuje rizik od negativnog utjecaja na neke osjetljive naredne usjeve poslije uzgoja suncokreta. Potrebno je naglasiti kako je nužno pravilno koristiti zaštitne djelatne tvari prilikom uzgoja suncokreta jer u protivnom može doći do fitotoksičnosti biljaka. Hibridi tolerantni na tribenuron-metil posjeduju sposobnost apsorbirati dvostruku dozu standarda herbicida bez pojave simptoma toksičnosti ili značajnih gubitaka komponenti uroda (Jocić i sur. 2011.) što su herbicid tolerantni hibridi u istraživanju Cvejić i sur. (2016.) to i potvrdili. Međutim, kontinuirana primjena istih herbicida ili herbicida istog mehanizma djelovanja na usjeve suncokreta uzrokuje nastanak rezistentnih populacija među raznim korovnim vrstama. Rezistentnost na herbicide ALS danas se smatra velikim problemom u mnogim usjevima širom svijeta zbog skraćivanja njihovog vijeka primijene u budućnosti (Šćepanović i sur. 2020). Oštećenja uzrokovana neadekvatnom primjenom herbicida se mogu smanjiti ako pažljivo slijedimo upute za njihovu primjenu i koristimo preporučenu tehniku aplikacije. Ujedno je jedan od mogućih načina sprječavanja negativnih utjecaja herbicida je upotreba neselektivnih herbicida jer su jednostavniji za primjenu i ekonomičniji, nisu toksični za ljude i životinje, a u tlu se vrlo brzo razgrađuju u neopasne sastojke ne kontaminirajući podzemne vode (Jurado i sur. 2011.).

### Zaključak

Primjena održive poljoprivrede je jako bitna za povećavanje produktivnosti proizvodnje suncokreta i zadovoljavanje budućih globalnih potreba za hranom uz istovremeno očuvanje prirodnih resursa i zaštitu okoliša. Pri proizvodnji suncokreta važna je razumna upotreba

herbicida za ispunjavanje tih ciljeva čime se ujedno i smanjuje razvoj otpornosti na herbicide te njihov štetni utjecaj na okoliš. Tome će uvelike doprinijeti daljnji razvoj i stvaranje novih alternativnih metoda za uništavanje korova. U budućnosti kao dio integriranog suzbijanja korova u suncokretu korištenje herbicida će ostati poljoprivredno učinkovito sredstvo za suzbijanje korova zbog čega je potrebno provoditi daljnja istraživanja za optimizaciju njihove upotrebe u uzgoju suncokreta, kao i razvoj novih gena otpornih na herbicide koji bi pružili alternativne izbore, povećali produktivnost i konkurentnu sposobnost suncokreta.

## Literatura

- Baličević R., Ravlić M. (2014). Herbicidi u zaštiti bilja. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku.
- Canjuga M. (2018). Osjetljivost suncokreta na herbicid mezotrion. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Cvejić S., Jocić S., Malidža G., Radeka I., Jocković M., Miklič V., Stojanović D. (2016). Novi hibridi suncokreta tolerantni na tribenuron-metil. Selekcija i semenarstvo, XXII (2): 61–68.
- Cvejić S., Jocić S., Dedić B., Miladinović D., Dimitrijević A., Imerovski I., Malidža G., Jocković M., Terzić S., Miklič V. (2017). Dostignuća u oplemenjivanju suncokreta na otpornost prema volovodu. Acta Herbologica. 26 (1): 21–30.
- Delchev G. (2019). Efficacy of herbicides and their tank mixtures at sunflower (*Helianthus annuus* L.). Objavljeno u *Scientific papers series A. Agronomy Volume LXII, No. 2*, Ciontu, C. (ed.), 59–68. Bucharest, Rumunjska: University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest, Faculty of Agriculture, Romania.
- Dubey R., Dubey D.P., Singh D., Bhatt C., (2011). Effective weed management strategies in soybean. Indian Farmers Digest. 44 (9): 16–19.
- Gupta R. D., Gupta S. K. (2016). Strategies for increasing the production of oilseed on a sustainable basis. Objavljeno u *Breeding oilseed crops for sustainable production Opportunities and constraints*, Gupta, S. K. (ed.), 1–19. London, UK: Elsevier.
- Gadžo D., Đikić M., Mijić A. (2011). Industrijsko bilje. Biljevac, S. (ed.), 12–32. Poljoprivredno-prehrambeni fakultet Univerziteta u Sarajevu, Bosna i Hercegovina.
- Glasnik zaštite bilja (2021). Sredstva za zaštitu bilja. 1-2, Zagreb, Hrvatska, Zadržna štampa d.d.
- Jocić S., Škorić D., Malidža G. (2001). Oplemenjivanje suncokreta na otpornost prema herbicidima. Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo. 35: 223–233.
- Jurado A. S., Fernandes M. A. S., Videira R. A., Peixoto F. P., Vicente J. A. F. (2011). Herbicides: The Face and the Reverse of the Coin. An in vitro Approach to the Toxicity of Herbicides in Non-Target Organisms. Objavljeno u *Herbicides and environment*. Kortekamp, A. (ur.), 3–44. InTech.
- Kaya Y. (2015). Herbicide resistance breeding in sunflower, current situation and future directions. Journal of ASM. Life Sciences. 2 (326): 101–106.
- Moore R., Clark W. D., Stern K. R. (1995). Botany. Kemp, M. J. (ur.), Wm. C. Brown Publishers.
- Narender J., Padmaja J., Srinivas A., Sailaja V. (2017). Effect of Herbicides on Yield and Economics of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). International Journal of Pure & Applied Bioscience. 5 (4): 1582–1587.
- Pospišil M. (2013). Suncokret. Objavljeno u *Ratarstvo II. dio – industrijsko bilje*, Butovac, J., Poljak, M., Kristek, A. (eds.), 10–45. Čakovec, Hrvatska: Zrinski d.d.
- Price A., Kelton J. (2011). Weed control in conservation agriculture. Objavljeno u *Herbicides, theory and applications*. Soloneski, S., Larramendy, M. L. (ur.), 4–16. InTech.
- Šćepanović M., Šošarić V., Pintar A., Lakić J., Barić K. (2020). Pojava rezistentnih populacija korova na herbicide inhibitore acetolaktat sintaze u Republici Hrvatskoj. Glasilo biljne zaštite 6/2020.

## **The use of herbicide in sunflower cultivation and their impact on the environment**

### **Abstract**

Herbicides are chemical agents that suppress or stop the growth of treated plants by selective or total action. They contain several chemical compounds that act by various mechanisms to control undesirable plant species. Although sunflower has good competitive abilities, weeds, depending on their growth and development, can cause significant damage. Appropriate application of herbicides facilitates harvesting and increases sunflower yields, while their inadequate use results in environmental and plant pollution, which is further introduced into animal and human organisms through the food chain. The most common herbicide damage is caused by herbicide residues applied in the previous crop, herbicide drift during treatment of nearby fields, the contamination of the sprayer itself and weed resistance to the applied herbicide. Continuation of damage to sunflower plants and the environment can be prevented using the recommended doses and herbicide application techniques. Using herbicides wisely, we influence agriculture preservation by increasing productivity and producing the required amounts of food globally.

**Keywords:** *Helianthus annuus*, herbicide, environment, plant protection products

## Occurrence of tropane alkaloids in maize

Gorica Vuković<sup>1</sup>, Vojislava Bursić<sup>2</sup>, Tijana Stojanović<sup>2</sup>, Bojan Konstantinović<sup>2</sup>, Bojana Špirović-Trifunović<sup>3</sup>, Aleksandra Petrović<sup>2</sup>, Sonja Gvozdenac<sup>4</sup>, Nikola Puvača<sup>5</sup>, Dušan Marinković<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Public Health, Bulevar despota Stefana 54a, Belgrade, Serbia  
(goricavukovic@yahoo.com)*

<sup>2</sup>*University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Trg Dositeja Obradovića 8, Novi Sad, Serbia*

<sup>3</sup>*University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, Belgrade, Serbia*

<sup>4</sup>*Institute of Field and Vegetable Crops, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Serbia*

<sup>5</sup>*University Business Academy in Novi Sad, Faculty of Economics and Engineering Management, Cvećarska 2, Novi Sad, Serbia*

### Abstract

Tropane alkaloids are secondary metabolites produced by a wide variety of plants from the families *Brassicaceae*, *Convolvulaceae*, *Moraceae* and *Solanaceae*. The validated rapid and sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was used for the determination and quantification of atropine and scopolamine in 18 maize samples. Of all the analysed samples 38.89% contained atropine and scopolamine, while in the 61.11% of the investigated samples tropane alkaloids were not detected, or the detections were under the limit of quantification of 5 µg kg<sup>-1</sup>. The concentrations ranged between 94.7 and 361.3 µg kg<sup>-1</sup> for the atropine and between 43.5 and 173.8 µg kg<sup>-1</sup> for the scopolamine.

**Key words:** tropane alkaloids, atropine, scopolamine, LC-MS/MS, maize

### Introduction

It is well known that plants, animals and microorganisms produce natural toxins which are not toxic to them, but can be toxic to humans when they ingest them through food. Those natural toxins may be present in food endogenously or exogenously and they receive significant attention due to their potential health hazards to humans. Bearing that in mind, the World Health Organization (WHO) accentuates the importance of monitoring the most relevant natural toxins in food by the national authorities (Casado et al., 2020).

In recent years, the awareness about the alkaloids of plant origin has been growing, because of their presence in food and feed and the poor knowledge about their potential health hazards. They are synthesized through the secondary metabolism of some plants, such as weeds, which grow in the fields and contaminate the food crops. The control of the exogenous plant toxins is of great importance, since they can cause mild to serious effects, chronic diseases due to the long-term exposure and even death when ingested through food and feed (Casado et al., 2020). Namely, the ingestion of tropane alkaloids can cause the disturbance of heart rate, euphoria/depression, disorientation etc. Since tropane alkaloids are known for their CNS activity they have been frequently abused, with the cocaine being a good example, which chronic ingestion may lead to psychomotor retardation, insomnia, depression, suicidal attempts, cardiac arrest, i.e. death (Kukula-Koch and Widelski, 2017).

Considering the biogenesis of alkaloids we can distinguish three main types: true alkaloids, protoalkaloids and pseudoalkaloids. On the other hand, based on the presence of the basic heterocyclic nucleus in the structure, the alkaloids can be divided into: imidazole alkaloids,

indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, quinoline alkaloids, piperidine alkaloids, pyrrolidine alkaloids, pyrrolizidine alkaloids, purine alkaloids, steroidal alkaloids and tropane alkaloids (Dey et al., 2020).

They are either esters of tropine or pseudotropine and can be divided into three groups: the ones from *Solanaceae* plants (i.e. atropine, scopolamine and hyoscyamine), coca alkaloids (i.e. cocaine from *Erythroxylum coca*) and the newly discovered group named calystegines – polyhydroxylated nortropine alkaloids (NTAs) which are mainly found in the families such as *Brassicaceae*, *Convolvulaceae*, *Erythrocylaceae*, *Moraceae* and *Solanaceae*. About 200 different tropane alkaloids have been described so far (Kohnen-Johannsen and Kayser, 2019). The tropane alkaloids levels in plants may depend on the part and type of the plant, ploidy level, as well as the salinity and nitrate content in soil (Fatur and Kreft, 2020). The main species which contain tropane alkaloids are species from the genera *Atropa*, *Datura* and *Hyoscyamus* from the family *Solanaceae*, the plants of the tropical and temperate regions of the world. During the harvest they end up in the agricultural crops (such as buckwheat, maize and sunflower), their products, as well as the tea and herbal blends as the accidental impurities (Gonçalves et al., 2020a). The humans can be exposed to the tropane alkaloids through the ingestion of the food contaminated because of the co-harvested tropane alkaloids containing plants (i.e. weeds), or due to the ingestion of edible plants mixed up with parts of the tropane alkaloids containing plants (Gonçalves et al., 2020b).

Since the maximum levels of the tropane alkaloids residues are not yet established it is considered that all samples containing tropane alkaloids above the Limit of Quantifications (LOQs) are not suitable for consumption (Vuković et al., 2018).

Due to the above-mentioned, in this paper the liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) has been applied for the atropine and scopolamine detection in 18 samples of maize collected during 2020.

## Material and Methods

### Chemicals and apparatus

Atropine and scopolamine reference standards were obtained from Sigma-Aldrich. The mixture working standard solution was prepared at 5 mg l<sup>-1</sup> with methanol and stored in the dark at -20°C. HPLC grade methanol and acetonitrile were obtained from J.T. Baker Chemicals. Formic acid was purchased from Fisher Scientific UK. The Agilent Bond Elut EN Buffered Extraction kit and Bond Elut QuEChERS EN Dispersive SPE kits for Fruits and Vegetables with fats and waxes were purchased from Agilent. An Agilent series 1200 HPLC system (Agilent Technologies) equipped with a G1312B binary pump, a G1367D autosampler, a G1379B degasser and G1316B column compartment thermostat. The HPLC system was coupled to an Agilent triple quadrupole mass spectrometer (6410 B) coupled to an electrospray ionization source (ESI+). A Zorbax XDB C18 column (50x4.6 mm, 1.8 µm particle size) from Agilent was employed for the separation. The chromatographic determination of atropine and scopolamine was carried out employing a binary mobile phase with methanol (A) and an aqueous solution of formic acid (0.1%, v/v) (B). A gradient elution started at 90% of B and held 4 min at flow rate of 0.4 mL min<sup>-1</sup>. This composition was reduced to 5% B in 10 min, and held for 5 min. The composition of the mobile phase returned to the initial conditions in 2 min and the stationary phase was equilibrated during 2 min. The total running time was 17 min. The injection volume was 5 µL and column temperature was kept at 25 °C. The ESI source values were as follows: drying gas (nitrogen) temperature 350 °C, drying gas flow rate 10 L min<sup>-1</sup>, nebulizer pressure 40 psi and capillary voltage 3500 V.

The detection was performed using the multiple reactions monitoring mode (MRM). The Agilent MassHunter software (version B.06.00 Agilent Tehnologies, 2012) was used for the optimization and quantification.

#### Sample collection

All analyses samples were the unprocessed maize from the local producer in the Republic of Serbia. The sampling was performed in accordance with 2002/63/EC for establishing MLs in the food commodities. All 18 samples were placed in polythene bags, labelled and transported to the laboratory for processing. The samples were ground into powder prior to the analysis. The blank samples were used for the preparation of fortified samples during the optimization of sample extraction procedure and method validation.

#### Sample preparation

A 5 g of homogenized sample was placed into a 50-mL centrifuge tube with adding of 10 ml of water to each tube and vortexed for 1 min and equilibrated for 10 min. Next, 10 mL aliquot of acetonitrile containing acetic acid (1%, v/v) was added and shaken by vortex for 1 min. An QuEChERS EN extraction salt packet was added directly to each tube. The tubes were sealed tightly and shaken vigorously for 20 seconds by hand and 15 min/250 rpm by orbital shakers. The sample tubes were centrifuged at 4000 rpm for 5 min. The supernatants were then transferred to 15-mL QuEChERS d-SPE kits consisting of C18 and MgSO<sub>4</sub>, vortexed for 5 min and centrifuged at 4000 rpm for 10 min. The obtained mixtures were transferred and dried under the nitrogen gas at 45 °C until the volume was < 0.3 mL. The residues were reconstituted in the mixture methanol/water up to 2 mL, vortexed, centrifuged at 7000 rpm and filtered prior to the LC-MS/MS analysis.

### Results and discussion

The ionization was achieved using electrospray in the positive ionization mode. For each compound the detection was related to four daughter ions (atropine: m/z 290.2 to 124.2, 93.2, 77.1 and 67.1; scopolamine: m/z 304.1 to 156.1, 138.2, 103.2 and 77.1). The most abundant product ions (for the confirmation) in case of both tropane alkaloids were given in Table 1.

Table 1. MRM transitions and conditions for the measurement of atropine and scopolamine

Tropane alkaloid	Transitions (m/z)	Collision energy (V)	Fragmentation energy (eV)
Atropine	290.2 → 124.2	24	96
Scopolamine	304.2 → 138.2	24	92

Validated LC-MS/MS method for the determination of atropine and scopolamine was used for the analyses of 18 maize samples. The validation was done according to the SANTE/1183/2017 (Vuković et al., 2018). The average recoveries of scopolamine and atropine were 85.5 and 65.7%, respectively, with the relative standard deviation (RSD) lower than 17%. The matrix-matched calibrations were with the R<sup>2</sup> > 0.99 in the calibration range from 2 to 20 µg kg<sup>-1</sup>. LOQs (limit of quantification) of atropine and scopolamine were set at 5 µg kg<sup>-1</sup>. These limits were checked in terms of the recovery and repeatability.

Table 2. Atropine and scopolamine residues in maize samples ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Sample	1	2	3	4	5	6
Atropine	< LOQ	113.3	152.3	< LOQ	361.3	98.6
Scopolamine	< LOQ	58.5	76.1	< LOQ	173.8	43.5
Sample	7	8	9	10	11	12
Atropine	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Scopolamine	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Sample	13	14	15	16	17	18
Atropine	124.7	< LOQ	< LOQ	94.7	< LOQ	104.5
Scopolamine	61.3	< LOQ	< LOQ	50.1	< LOQ	51.8

An acute reference dose established by the European Food Safety Authority (EFSA) is  $0.016 \mu\text{g kg}^{-1}$  body weight for the sum of atropine and scopolamine (Romera-Torres et al., 2020). The EU Directive 2002/32/EC stated that the presence of the seeds produced by weeds and fruits containing tropane alkaloids, glucosides or other substances that are considered toxic is allowed combined or separated with the maximum concentration of  $3000 \text{ mg kg}^{-1}$ , while the maximum concentration for species of genus *Datura* is  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$ . The Netherlands put *Datura sp.* on the list of plants the presence of which is forbidden in food (Adamse et al., 2014). The EU Regulation 2016/239 established  $1 \mu\text{g kg}^{-1}$  as the maximum concentration of atropine and scopolamine in foods for infants and young children that contain cereals. The EU commission recommendation 2015/976 stated that the LOQ for atropine and scopolamine in agricultural commodities, food supplements, ingredients and herbal teas is preferred to be below  $5 \mu\text{g kg}^{-1}$  and not exceeding  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ , while in case of the finished foods (e.g. breakfast cereals) the concentration should be below  $2 \mu\text{g kg}^{-1}$  (Martinello et al., 2017).

## Conclusion

In 7 analysed samples of maize, which is almost half of the 18 analysed samples in total, the atropine and the scopolamine were detected in the concentrations significantly higher than their LOQs, ranging between  $94.7$  and  $361.3 \mu\text{g kg}^{-1}$  for the atropine and between  $43.5$  and  $173.8 \mu\text{g kg}^{-1}$  in case of the scopolamine, which at slightest can be considered significantly alarming. It can also be concluded that the detected concentrations of atropine were 2 times higher than the ones of scopolamine. The results of this research accentuate the need for establishing the maximum concentrations of tropane alkaloids in maize, since they have not been determined to this day.

## Acknowledgements

The authors acknowledge the financial support of the Ministry of Education and Science, Republic of Serbia.

## References

- Adamse P., van Egmond H. P., Noordam M. Y., Mulder P. P. J., de Nijs M. (2014). Tropane alkaloids in food: poisoning incidents. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*. 6 (1): 21.
- Casado N., Gañán J., Morante-Zarcero S., Sierra I. (2020). New advanced materials and sorbent-based microextraction techniques as strategies in sample preparation to improve the determination of natural toxins in food samples. *Molecules*. 25 (702): 1-2.

- Dey P., Kundu A., Kumar A., Gupta M., Lee B. M., Bhakta T., Dash S., Kim H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). *Recent advances in natural products analysis*, Elsevier. 506-512.
- Fatur K., Kreft S. (2020). Common anticholinergic solanaceous plants of temperate Europe – A review of intoxications from the literature (1966-2018). *Toxicon*. 177: 85.
- Gonçalves C., Cubero-Leon E., Stroka J. (2020a). Determination of tropane alkaloids in cereals, tea and herbal infusions: exploiting proficiency testing data as a basis to derive interlaboratory performance characteristics of an improved LC-MS/MS method. *Food Chemistry*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127260>.
- Gonçalves C., Bouten K., Stroka J. (2020b). Occurrence and determination of tropane alkaloids in food and feed. *Encyclopedia of analytical chemistry*. 2.
- Kohnen-Johannsen K., Kayser O. (2019). Tropane alkaloids: chemistry, pharmacology, biosynthesis and production. *Molecules*. 24 (796): 1.
- Kukula-Koch W. A., Widelski J. (2017). Alkaloids. *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategies*, Elsevier. 174.
- Martinello M., Borin A., Stella R., Bovo D., Biancotto G., Gallina A., Mutinelli F. (2017). Development and validation of a QuEChERS method coupled to liquid chromatography and high resolution mass spectrometry to determine pyrrolizidine and tropane alkaloids in honey. *Food Chemistry*. 234 (1): 295-302.
- Romera-Torres A., Romero-González R., Martínez Vidal J. L., Garrido Frenich A. (2020). Comprehensive tropane alkaloids analysis and retrospective screening of contaminants in honey samples using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (Orbitrap). *Food Research International*. 133: 1.
- Vuković G., Bursić V., Stojanović T., Petrović A., Gvozdenac S., Starović M., Kuzmanović S., Aleksić G. (2018). LC-MS/MS determination of tropane alkaloids in maize crop. *Contemporary Agriculture*. 67 (3-4): 222-223.



## Barley yield, yield components and nutrient content in intercropped system of walnut and barley

Helena Žalac, Vladimir Zebec, Miro Stošić, Brigita Popović, Ante Bubalo, Jurica Jović, Goran Herman, Ivan Paponja, Vladimir Ivezić

*University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, Faculty of agrobiotechnical sciences Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Croatia (e-mail: [hzalac@fazos.hr](mailto:hzalac@fazos.hr))*

### Abstract

The aim of research was to determine the productivity of the intercropped system of walnut and winter barley and investigate how barley performed in that system in terms of yield, yield components, and nutrient content in the grain. Field trial consisted of three plots: a) control plot of monoculture barley; b) sole walnut orchard; c) walnut orchard with intercropped barley. Despite decreased barley yield, the LER value of 1.53 showed that intercropping had a productive advantage over monoculture systems. Also, the number of fertile spikelets, the length of spikes, the weight of 1000 grains, and the nutrients content of N, P, K, Cu, Fe, and Zn were statistically higher in barley grown in the intercropped orchard. These results suggest that walnut tree vicinity could have a positive effect on barley yield quality.

**Keywords:** intercropping, walnut, barley, productivity, nutrients

### Introduction

In the last few decades, intercropping arable crops with wood species is showing to be potentially the most sustainable alternative to conventional agriculture production, as it provides many ecological benefits (Tsonkova et al., 2012). Besides ecological benefits, the addition of trees to arable systems can have a positive effect on intercrops by creating microclimate conditions that improve plant resistance to stress conditions (Gosme et al., 2016). It also provides protection against plant diseases, pests, and weeds (Pumari et al., 2015), and it can positively influence soil fertility (Zake et al., 2015), as well as water and nutrients availability (Zhu et al., 2020).

Barley is a widely adapted crop that grows under a wider range of environmental conditions than any other cereal, with winter barley cultivated mostly under warmer climatic conditions and summer barley in cooler climates. Approximately 65% of barley crop is being utilized as animal feed, around 30% for malting and brewing, and only 2–3% for human consumption, but that number is slowly increasing as its health benefits are becoming more recognized (Aldughpassi et al., 2015). Although the trend of declining areas sown with barley has been recorded for the past 15 years, it is still one of the most important agricultural crops in Croatia and ranks 3rd in terms of production (Iljkić et al., 2019). According to the latest data from the Statistical yearbook from 2018, there was a total of 53950 ha of agricultural land under barley production with a total production of 260426 t, and the average yield was 4.8 t ha<sup>-1</sup> (Statistical yearbook, 2018).

The aim of our study was to determine how winter barley reacts to intercropping with walnuts in terms of yield, yield components and the nutrients content in the grain. We also examined the overall productivity of intercropped system by calculating the Land equivalent ratio (LER).

## Materials and methods

The field trial was set up in eastern Croatia, near city Đakovo, on a loam soil with the effective soil depth of 1500 mm. Walnut orchard cultivated there is 12 years old with 10 rows of grafted walnut trees and 8 m alleys between trees. Within first 5 rows of orchard, barley was sown in strips of 6 m width. Field trial consisted of three plots, all in close proximity, on the same soil type and under the same soil management: a) control plot of monoculture barley; b) sole walnut orchard; c) walnut orchard with intercropped barley. Climatic parameters were monitored during the vegetation period of barley. After the harvest, soil samples were collected and analyzed for each system. Yields were determined by harvesting barley from 1 m<sup>2</sup> area, separating and weighing the grain and calculating the grain weight per 1 ha area to obtain total yields in t ha<sup>-1</sup>. From the same 1 m<sup>2</sup> frame number of plants were counted to express plant density in each system. Yield components, the number of sterile and fertile spikelets, the length of stem and spikes, and the weight of 1000 grains were also measured by sampling random barley plants for each system. Analyses of K, Cu, Fe, Mn and Zn content in barley grain were determined on atomic absorption spectrophotometer, P on inductively coupled plasma and N by using Kjeldahl digestion method.

From the crop and walnut fruit yields, land equivalent ratio (LER) was estimated (Eq 1. The land equivalent ratio is defined as the ratio of the area under monoculture production to the area under intercropping needed to give equal yields at the same management level (Ong and Kho, 2015). It is calculated as the ratio of tree yield from intercropped system to the tree monoculture yield plus the ratio of crop yield from the intercropped system to the crop monoculture yield, as shown:

Equation 1.

When  $LER \leq 1$ , there is no agronomic advantage of intercropping over sole cropping, but when  $LER > 1$ , production in the intercropped system is higher than in the separate sole crops.

Statistical analysis of the obtained data was conducted in R software using Student T-test, One-way ANOVA and Tukey's honestly significant difference (HSD) post hoc test. Non-parametric alternative tests were applied where appropriate.

## Results and discussion

Walnut fruit yield was determined for walnuts in green husk, as it was harvested and sold in such market form. Fruit yield in intercropped orchard was 2136 kg ha<sup>-1</sup> and in sole orchard 2625 kg ha<sup>-1</sup>. Lower walnut yield in the intercropped orchard was expected since that area of the orchard consistently had lower yield for years, even before intercropping arable crops in the alleys between trees. Barley yield in monoculture plot was 7.52 t ha<sup>-1</sup> and in intercropped orchard 7.21 t ha<sup>-1</sup>. However, since only 75% (6 m out of 8 m) of the area in the intercropped orchard was covered with barley (the rest 25% was walnut rows), the actual barley yield per ha in the intercropped system was 5.41 t ha<sup>-1</sup>. The sum of relative intercropped yields for walnut and barley gave an LER value of 1.53 (Eq. 2), which means that intercropping arable crops in walnut orchard increased productivity of that area by 53% in regards to monoculture systems.

Equation 2.

Significantly lower barley yield in the intercropped system is in accordance with significantly lower plant density in that system compared to monoculture plot (Table 2). Lower plant density and lower crop yields in intercropped systems are probably the result of shading from tree canopies, which showed to be determining factor in these systems (Dufour et al., 2013). In favor of the argument that the shading effect was the main factor reducing barley yield are generally better soil properties in the intercropped system than barley monoculture plot (Table 1).

Table 1. Soil parameters in three observed systems

	Monoculture barley	Intercropped system	Walnut orchard
pH ( $H_2O$ )	5.41 <sup>b</sup>	6.29 <sup>a</sup>	6.16 <sup>a</sup>
SOM (%)	1.54 <sup>b</sup>	1.96 <sup>a</sup>	2.20 <sup>a</sup>
AL- $P_2O_5$ (mg/100g)	7.49 <sup>ns</sup>	7.49 <sup>ns</sup>	7.28 <sup>ns</sup>
AL- $K_2O$ (mg/100g)	10.56 <sup>b</sup>	12.37 <sup>b</sup>	20.51 <sup>a</sup>

<sup>ns</sup> indicates no significant differences, <sup>a</sup> and <sup>b</sup> indicate significant difference ( $\alpha=0.05$ ), SOM – soil organic matter

Even though the total barley yield and plant density were reduced in intercropped system, all of the market-relevant yield components: the number of fertile spikelets, the length of spikes, and the weight of 1000 grains were significantly higher in the intercropped orchard (Table 2). Nutrient content analysis of barley grain also showed statistically significant differences in favor of intercropping for all observed elements, except Mn, which was significantly higher in barley grain grown in monoculture plot (Table 2).

Table 2. Yield, yield components and nutrient content in grain of barley in monoculture system and intercropped system

	Monoculture barley	Intercropped system
Yield ( $t\ ha^{-1}$ )	7.52 <sup>a</sup>	5.41 <sup>b</sup>
Plant density ( $plants\ per\ m^2$ )	784 <sup>a</sup>	681 <sup>b</sup>
Number of fertile spikelets ( $per\ plant$ )	19.75 <sup>b</sup>	20.83 <sup>a</sup>
Number of sterile spikelets ( $per\ plant$ )	1.90 <sup>ns</sup>	1.76 <sup>ns</sup>
1000 grains weight (g)	54.17 <sup>b</sup>	64.00 <sup>a</sup>
Stem length (cm)	60.07 <sup>ns</sup>	60.74 <sup>ns</sup>
Spike length (cm)	6.81 <sup>b</sup>	7.62 <sup>a</sup>
N (%)	0.72 <sup>b</sup>	1.06 <sup>a</sup>
P ( $mg\ kg^{-1}$ )	2636.6 <sup>b</sup>	3318.8 <sup>a</sup>
K ( $mg\ kg^{-1}$ )	4487.2 <sup>b</sup>	5395.3 <sup>a</sup>
Cu ( $mg\ kg^{-1}$ )	3.03 <sup>b</sup>	4.44 <sup>a</sup>
Fe ( $mg\ kg^{-1}$ )	31.28 <sup>b</sup>	41.96 <sup>a</sup>
Mn ( $mg\ kg^{-1}$ )	10.39 <sup>a</sup>	9.33 <sup>b</sup>
Zn ( $mg\ kg^{-1}$ )	20.31 <sup>b</sup>	27.16 <sup>a</sup>

<sup>ns</sup> indicates no significant differences, <sup>a</sup> and <sup>b</sup> indicate significant difference ( $\alpha=0.05$ )

Although soil in intercropped orchard had more favorable properties in terms of pH and SOM, these observations (Table 2) could be attributed to the possible positive effect of walnut root net in nutrient acquisition from deeper layers of soil. Namely, in intercropped systems, tree roots can form horizontal net under crop root zone where this may act as safety-

net intercepting mineral nutrients leaching from the topsoil. Also, associated with the safety net process is nutrient pumping - the acquisition of nutrients deeper in the soil profile by tree roots, the translocation of nutrients to litter tissue, the deposition of litter on the soil surface via litterfall, and the addition of nutrients to the top soil via decomposition processes (Isaac and Borden, 2019). These processes can positively affect soil fertility and thus increase the availability of nutrients to intercrops. Factors that could also have positive effect on yield components and nutrient uptake are better water utilization in the intercropped orchard (Droppelmann et al., 2000), as well as potentially greater root colonization by mycorrhizal fungi (Shukla et al., 2009).

## Conclusion

Although barley yield was reduced in the intercropped orchard, the system had LER value of 1.53 meaning that intercropping had the advantage over sole cropping, i.e. increased productivity. Intercropping positively affected yield components; the number of fertile spikelets, the length of spikes, and the weight of 1000 grains were significantly higher than in the monoculture plot. Analysis of barley grain nutrient content also showed an advantage for intercropped systems, with statistically significant higher values than in barley grain from monoculture plot. Similar positive effects of tree vicinity on intercrops have been recorded before, but to fully evaluate belowground interactions between barley and walnut, a detailed assessment of roots and nutrients distribution in the soil is needed, as well as the assessment of water movement in such systems.

## Acknowledgment

Authors would like to thank Croatian Science Foundation for funding this research through project UIP-7103 “*Intercropping of wood species and agricultural crops as an innovative approach in agroecosystems*”

## References

- Aldughpassi A., Wolever T.M.S., Abdel-Aal E.S.M. (2015). Barley. Encyclopedia of Food and Health, 328–331.
- Croatian Agricultural and Forestry Advisory Service (2018). Katalog kalkulacija poljoprivredne proizvodnje 2018. Retrieved from: <https://www.savjetodavna.hr/product/katalog-kalkulacija-poljoprivredne-proizvodnje/>.
- Droppelmann K.J., Lehmann J., Ephrath J.E., Berliner P. R. (2000). Water use efficiency and uptake patterns in a runoff agroforestry system in an arid environment. *Agroforestry Systems*, 49 (3): 223–243.
- Dufour L., Metay A., Talbot G., Dupraz C. (2013). Assessing light competition for cereal production in temperate agroforestry systems using experimentation and crop modelling. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199 (3):217–227.
- Gosme M., Dufour L., Inurreta-Aguirre H., Dupraz C. (2016). Microclimatic effect of agroforestry on diurnal temperature cycle. *Proceedings of 3rd European Agroforestry Conference*, 183–186.
- Ijkić D., Kranjac D., Zebec V., Varga I., Rastija M., Antunović M., Kovačević V. (2019). Conditions and perspective of cereals and oilseed crops production in the Republic of Croatia. *Journal of Plant Protection*. 42 (3): 62-71.
- Isaac M.E., Borden K.A. (2019). Nutrient acquisition strategies in agroforestry systems. *Plant and Soil*, 444 (1–2): 1–19.
- Ong C.K., Kho R.M. (2015). A framework for quantifying the various effects of tree-crop interactions. *Tree-Crop Interactions: Agroforestry in a Changing Climate*, 1–23.

- Pumari L., Midega C., Jonsson M., Sileshi G.W., Gripenberg S., Kaartinen R., Barrios E., Muchane M.N. (2015). Effects of agroforestry on pest, disease and weed control: A meta-analysis. *Basic and Applied Ecology*, 16 (7): 573–582.
- Shukla A., Kumar A., Jha A., Chaturvedi O.P., Prasad R., Gupta A. (2009). Effects of shade on arbuscular mycorrhizal colonization and growth of crops and tree seedlings in Central India. *Agroforestry Systems*, 76 (1): 95–109.
- Tsonkova P., Böhm C., Quinkenstein A., Freese D. (2012). Ecological benefits provided by alley cropping systems for production of woody biomass in the temperate region: A review. *Agroforestry Systems*, 85 (1): 133–152.
- Zake J., Pietsch S.A., Friedel J.K., Zechmeister-Boltenstern S. (2015). Can agroforestry improve soil fertility and carbon storage in smallholder banana farming systems? *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 178 (2): 237–249.
- Zhu X., Liu W., Chen J., Bruijnzeel L.A., Mao Z., Yang X., Cardinel R., Meng F.R., Sidle R.C., Seitz S., Nair V.D., Nanko K., Zou X., Chen C., Jiang X.J. (2020). Reductions in water, soil and nutrient losses and pesticide pollution in agroforestry practices: a review of evidence and processes. *Plant and Soil*, Vol. 453.

## **Prinos ječma, komponente prinosa i sadržaj hranjivih elemenata u konsocijacijskom sustavu oraha i ječma**

### **Sažetak**

Cilj istraživanja bio je odrediti produktivnost konsocijacijskog sustava oraha i ozimog ječma, kao i utjecaj ovakvog sustava na prinos ječma, komponente prinosa i sadržaj hranjivih elemenata u zrnu. Poljski pokus sastojao se od tri tretmana: a) kontrolna parcela ječma; b) voćnjak oraha; c) konsocijacija oraha i ječma. Iako je prinos ječma bio značajno smanjen, LER vrijednost od 1,53 pokazala je da je konsocijacijski sustav ostvario veću produktivnost nego konvencionalni sustavi. Također, broj fertilnih klasića, duljina klasa, masa 1000 zrna te sadržaj elemenata N, P, K, Cu, Fe i Zn bili su statistički značajno veći kod ječma uzgojenog u konsocijaciji. Ovi rezultati sugeriraju da blizina stabala oraha može imati pozitivan utjecaj na kvalitetu zrna ozimog ječma.

**Ključne riječi:** konsocijacija, orah, ječma, produktivnost, hranjivi elementi

**Ribarstvo,  
lovstvo i  
pčelarstvo**

**06**

**Fisheries,  
Game Management  
and Beekeeping**



## Melittin stability in honey bee venom under different storage conditions measured with RP-HPLC-PDA method

Ivana Flanjak<sup>1</sup>, Ljiljana Primorac<sup>1</sup>, Milica Cvijetić Stokanović<sup>1</sup>, Zlatko Puškadija<sup>2</sup>, Blanka Bilić Rajs<sup>1</sup>, Marin Kovačić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Food Technology Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Franje Khača 18, 31000 Osijek, Croatia (ivana.flanjak@ptfos.hr)

<sup>2</sup>Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Croatia

### Abstract

The aim of this study was to determine performance characteristics of reversed-phase high performance liquid chromatographic method with photo-diode array detector (RP-HPLC-PDA) for melittin content determination, and to evaluate the melittin content in honey bee venom during 6 months of storage at room temperature and in the freezer. Based on the obtained results of the method performance characteristics (linearity, precision, trueness, LOD and LOQ), the used RP-HPLC-PDA method is fit for purpose. Linearity was confirmed with correlation coefficient of 0.999 while relative standard deviation (RSD) of sample preparation repeatability was 2.45 %. Limits of detection and quantification were 0.62 µg/mL and 1.88 µg/mL, respectively. Statistical analysis showed that the storage temperature had no effect on the melittin content during 6 months of storage. The results of this study can be of great interest to the beekeepers because it shows that venom quality is maintained with reduced cost for storing and manipulation.

**Key words:** honey bee venom, melittin, RP-HPLC-PDA method, stability, storage

### Introduction

Honey bee venom (HBV) has been used to treat many diseases since ancient times, and in recent times some positive effects of the use of honey bee venom have received scientific confirmation. It is a thick, white-yellowish, almost transparent liquid, which turns into a powdery, white solid when dried (Bogdanov, 2017). The main component of dry HBV is the peptide melittin. HBV also contains significant amount of peptide apamine, enzymes phospholipase A and hyaluronidase, then carbohydrates, phospholipids and some volatile components (Erler and Moritz, 2016; El-Wahed et al., 2019). Melittin, which consists of 26 amino acids (Bogdanov, 2017), is responsible for the pain causing effect, and recent studies showed its positive impact on various diseases, among which the most important are considered to be against cancer cells (Rady et al., 2017, Duffy et al., 2020), leukaemia cells (Ceremuga et al., 2020) and *Escherichia coli* (Nehme et al., 2020). Various methods and techniques for the determination of melittin in HBV have been described in the literature, and the most commonly used is high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with an absorption detector or mass spectrometry due to the ease of preparation, accuracy and specificity (Huang et al., 2020, Matysiak et al., 2016, Haghi et al., 2013, Zhou et al., 2010, Kokot and Matysiak, 2009, Rybak-Chmielewska and Szczęśna, 2004).

Honey bee venom collection, despite its high price on the market, is considered as a marginal activity for the beekeepers. One of the reasons is that there is still no standardized technology for collecting HBV. In addition, the HBV quality criteria are not prescribed by regulations, and the main problem is that bee venom cannot be classified as either a medicine or food.



Recently, de Graaf et al. (2020) published a review paper describing different methods of collecting, chemical characterizing (analyses) and storing of HBV. Literature data state that honey bee venom should be stored at low temperatures to preserve its positive properties (de Graaf et al., 2020, Zhou et al., 2010, Krell, 1996) but the beekeeping practice has shown that many beekeepers store dry honey bee venom in dark bottles at room temperature.

The aim of this study was to determine the method performance characteristics of the RP-HPLC-PDA method for melittin determination, and to evaluate the melittin content in HBV during 6 months of storage at different temperatures.

## Material and methods

### Honey bee venom samples

Venom samples were collected during July of 2020 in Baranja (Croatia) on *Apis mellifera carnica* colonies in LR hives. HBV collectors were located inside the hives, on top of the frames in upper honey super.

Immediately after collection, the venom samples were transported to the laboratory on glass plates covered with transparent nylon foil. Air-dried samples were removed from the glass with a scraper and transferred into plastic container. To evaluate the stability of honey bee venom in relation to the melittin content, the same quantity of composite honey bee venom sample was transferred into two dark glass containers. One sample was stored in the dark place at room temperature, and the other was stored in the freezer. The melittin content was determined in fresh sample and after 1, 2, 3 and 6 months of storage.

### RP-HPLC-PDA method

Melittin content in honey bee venom was determined using RP-HPLC-PDA method on Shimadzu HPLC system consisting of solvent delivery module (LC-20 AD), column oven (CTO-20AC), autosampler (SIL-10AF), and photodiode array detector (SPD-M20A). Qualitative and quantitative analysis was performed using LabSolution Lite software (Release 5.52). The original method by Rybak-Chmielewska and Szczęśna (2004) with some modifications (gradient elution conditions, mobile phase flow) was used, and modified method was validated before analysis. Chromatographic conditions applied in this study are summarised in Table 1. Identification of melittin in honey bee samples was done based on the retention time and the comparison of absorbance spectrum with the data of standard (Melittin from honey bee venom,  $\geq 85\%$ , Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), and the quantification using external calibration method.

Table 1. RP-HPLC-PDA conditions

HPLC column	GL Sciences Inerstil ODS-3V; 250 mm x 4.6 mm, 5 $\mu$ m
Mobile phase (MP)	Solvent A: 0.1 % trifluoroacetic acid (TFA) Solvent B: 0.1 %TFA in acetonitrile:water solution (80:20)
Gradient elution conditions	0 min - 5% B; 40 min - 80 % B; 50 min - 5% B
MP flow (mL/min)	1.5 mL/min
Column temperature ( $^{\circ}$ C)	25
Injection volume ( $\mu$ L)	40 $\mu$ L
PDA conditions	Monitoring $\lambda$ range: 190-380 nm Detection $\lambda$ : 202 nm Temperature: 25 $^{\circ}$ C

Method performance characteristics (linearity, trueness, precision, limits of detection and quantification) were determined to assess the fitness of RP-HPLC-PDA method for melittin determination. Linearity was evaluated by the preparation of melittin standard solutions (20 – 710 µg/mL) and creation of the calibration curve. Trueness was tested by the determination of melittin content in pure honey bee venom sample, and fortified sample with the known amount of melittin standard and expressed as percentage recovery of known, added amount of melittin (%). Precision of method (sample preparation repeatability) was tested by preparing and analysing 5 solutions of honey bee venom and it was expressed as relative standard deviation (RSD, %). Limits of detection and quantification (LOD and LOQ) were calculated from signal-to-noise ratio multiplied by 3.3 and 10, respectively.

Working sample solutions for HPLC analysis were prepared by dilution of 2 mg ( $\pm 0.01$  mg) of honey bee venom in 3 mL of ultrapure distilled water, and filtration through 0.45 µm nylon membrane filter before injection. All analyses were performed in triplicates.

#### *Statistical analysis*

The effect of storage conditions (temperature and time) on melittin content was evaluated by t-test using Statistica®, Version 13.4.0.14 (1984–2018 TIBCO Software Inc., California, USA). Results were considered significant at p-value 0.05.

### **Results and discussion**

Method performance characteristics (linearity, precision, trueness, LOD and LOQ) of used RP-HPLC-PDA method were determined to assess the fitness for the purpose of melittin determination. The results are summarised in Table 2.

Table 2. Method performance characteristics of used RP-HPLC-PDA method

Method performance characteristic	HPLC method
Linearity	
Concentration range (µg/mL)	20 – 710
Correlation coefficient (r)	0.999
Precision	
Sample preparation repeatability (RSD, %)	2.45
Trueness	
Recovery (%)	98.8
Limit of detection (µg/mL)	0.62
Limit of quantification (µg/mL)	1.88

The method linearity was proved ( $r=0.999$ ) in the whole evaluated concentration range (Table 2). Similar correlation coefficients were reported by Rybak-Chmielewska and Szczęśna (2004), and Haghi et al. (2013) for applied HPLC methods with absorption detectors. The precision of used chromatographic method was validated by measurement of sample preparation repeatability due to the fact that HBV can be contaminated by environmental impurities that can not be pre-purified, as well as the fact that the sample for analysis is often composite sample obtained by combining samples collected from several bee colonies. Relative standard deviation (RSD) of sample preparation repeatability was 2.45 % (Table 2) that is slightly higher compared to RSD values reported by Haghi et al. (2013) and Rybak-Chmielewska and Szczęśna (2004), but lower than those reported by Zhou et al. (2010) and Huang et al. (2020) for HPLC-DAD-MS/MS and UPLC-QqTOF-MS methods. Based on the obtained recovery of 98.8 %, the results determined by this method are true. LOD obtained in this study was 0.62 µg/mL that is lower than 1.1 µg/mL reported by Haghi

et al. (2013) for their HPLC-PDA method, that indicates good sensitivity of used method. Overall performance characteristics imply that used RP-HPLC-PDA method is fit for purpose.

Collection of HBV is nowadays mostly performed using electro stimulation method by collectors placed at the hive entrance or inside the hive. After the HBV is collected, it is dried to prevent degradation and avoid autolysis, and stored under a low temperatures (Krell, 1996; Bogdanov, 2017, de Graaf et al., 2020). However, some beekeepers store air-dried HBV in the dark glass containers at room temperatures. This fact prompted us to evaluate the melittin content in HBV samples stored at room temperature, and in a freezer during 6 months period. The results of melittin content in fresh samples and samples stored at different temperatures are presented in Table 3.

Table 3. Melittin content (average value  $\pm$  standard deviation) in fresh and honey bee venom samples during storage

Sample	Melittin content (%)	
Fresh sample	60.87 $\pm$ 2.61	
Storage duration	S1	S2
One month	58.09 $\pm$ 1.86	59.03 $\pm$ 2.02
Two months	59.28 $\pm$ 3.65	59.55 $\pm$ 2.39
Three months	62.97 $\pm$ 0.70	60.91 $\pm$ 0.74
Six months	61.76 $\pm$ 4.13	61.98 $\pm$ 3.28

S1-sample stored at room temperature, S2-sample stored in freezer

HPLC analysis measured 60.87  $\pm$  2.61 % of melittin in fresh samples which indicates good HBV quality. The obtained results on the melittin content are in compliance to the literature data (Haghi et al., 2013, Rybak-Chmielewska and Szczęśna, 2004) for *Apis mellifera* HBV, and higher than bee venom produced by African and Asian bees (El-Wahed et al., 2019, Huang et al., 2020).

Statistical analysis showed that the temperatures and 6-month storage period had no effect on melittin content in analysed samples. Whether the slightly higher melittin content determined after three and six months of storage can be attributed to the previously mentioned variability in melittin content, should be investigated in subsequent studies. The results of this study can be of great interest to the beekeepers because it enables them to make the post collection manipulation easier and reduce the cost of handling the final product.

## Conclusions

Standardization of honey bee venom collecting methodology and further manipulation is of great importance to the beekeepers since the interest for high quality honey bee venom is constantly growing. The results of this study showed that storage of honey bee venom on different temperatures over six month period had no negative effect on melittin content. The honey bee venom can be stored at room temperature for six months without degradation of its quality. The results also showed that applied RP-HPLC-PDA method is fit for melittin determination, and can be used in routine analysis.

## Acknowledgement

The results presented in the paper are an output from research project UNIOS-ZUP 2018-9 „Impact of bee venom collecting conditions on concentration of melittin“ financed by Josip Juraj Strossmayer University of Osijek.

## References

- Bogdanov S. (2017). The Bee Venom Book. Bee Products Science. Available from: <http://www.bee-hexagon.net/venom/>
- de Graaf D. C., Brochetto Braga M. R., Magalhães de Abreu R. M., Blank S., Bridts C. H., de Clerck L. S., Devreese B., Ebo D. G., Ferris T. J., Hagendorens M. M., Justo Jacomini D. L., Kanchev I., Kokot Z. J., Matysiak J., Mertens C., Sabato V., van Gasse A. L., van Vaerenbergh M. (2020). Standard methods for *Apis mellifera* venom research. Journal of Apicultural Research, 2020.
- Duffy C., Sorolla A., Wang E., Golden E., Woodward E., Davern K., Ho D., Johnstone E., Pflieger K., Redfern A., Iyer K.S., Baer B., Blancafort P. (2020). Honeybee venom and melittin suppress growth factor receptor activation in HER2-enriched and triple-negative breast cancer. npj Precision Oncology, 4, 24.
- Ceremuga M., Stela M., Janik E., Gorniak L., Synowiec E., Sliwinski T., Sitarek P., Saluk-Bijak J., Bijak M. (2020). Melittin-A Natural Peptide from Bee Venom Which Induces Apoptosis in Human Leukaemia Cells. Biomolecules, 10(2): 247.
- El-Wahed A. A. A., Khalifa S. A. M., Sheikh B. Y., Farag M. A., Larik F. A., Saeed A., Koca-Caliskan U., AlAjmi M. F., Hassan M., Wahabi H. A., Hegazi M.-E. F., Algethami A. F., Büttner S., El-Seedi H. R. (2019). Bee venom composition: From Chemistry to Biological Activity. Studies in Natural Products Chemistry 60: 459-484.
- Erler S., Moritz R. F. A. (2016). Pharmacophagy and pharmacophory: mechanisms of self-medication and disease prevention in the honeybee colony (*Apis mellifera*). Apidologie 3: 389-411.
- Haghi G., Hatami A., Mehran M. (2013). Qualitative and quantitative evaluation of melittin in honeybee venom and drug products containing honey-bee venom. Journal of Apicultural Science 57(2): 37-44.
- Huang S., Wang J., Guo Z., Wang Y., Liu C. (2020). Quantitative Measurement of Melittin in Asian Honeybee Venom Using a New Method Including UPLC-QqTOF-MS. Toxins 12: 437.
- Kokot Z. J., Matysiak J. (2009). Simultaneous determination of major constituents of honeybee venom by LC-DAD. Chromatographia 69: 1401-1405.
- Krell R. (1996). Venom. In: *Value-added products from beekeeping*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (ed.). 215-227, Rome, Italy: FAO.
- Matysiak J., Hajduk J., Mayer F., Hebel R., Kokot Z. J. (2016). Hyphenated LC–MALDI–ToF/ToF and LC–ESI–QToF approach in proteomic characterization of honeybee venom. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 121: 69-76.
- Nehme H., Ayde H., El Obeid D., Sabatier J.M., Fajloun Z. (2020). Potential Inhibitory Effect of *Apis mellifera*'s Venom and of Its Two Main Components—Melittin and PLA2—on *Escherichia coli* F1F0-ATPase. Antibiotics, 9(11), 824.
- Rady I., Siddiqui I. A., Rady M., Mukhtar H. (2017). Melittin, a major peptide component of bee venom, and its conjugates in cancer therapy. Cancer Letters 402: 16-31.
- Rybak-Chmielewska H., Szczęśna T. (2004). HPLC study of chemical composition of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom. Journal of Apicultural Science 48:103-109.
- Zhou J., Zhao J., Zhang S., Shen J., Qi Y., Xue X., Li Y., Wu L., Zhang J., Chen F., Chen L. (2010). Quantification of melittin and apamin in bee venom lyophilized powder from *Apis mellifera* by liquid chromatography-diode array detector-tandem mass spectrometry. Analytical Biochemistry 404: 171-178.

## Trammel net by-catch composition in the Bay of Medulin

Neven Iveša<sup>1</sup>, Raoul Filipas<sup>1</sup>, Oliver Barić<sup>1</sup>, Martina Gelli<sup>1,2</sup>, Ivan Radetić<sup>3</sup>, Antonio Castelletchio<sup>2</sup>, Jurica Jug-Dujaković<sup>4</sup>, Ana Gavrilović<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Zagrebačka ulica 30, Pula, Hrvatska, e-mail: nivesa@unipu.hr

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Rooseveltov trg 6, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Univerza na Primorskem, Titov trg 4, 6000 Koper, Slovenia

<sup>4</sup>Sustainable Aquaculture Systems Inc., 715 Pittstown Road, Frenchtown, NJ 08825, USA

<sup>5</sup>Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska, e-mail: agavrilovic@agr.hr

### Abstract

The aim of this paper is to present data on trammel net catch in the Medulin Bay, and to show the ratio of economically important fish species to those that are not, and fall into the category of by-catch. Net deployment was done twice a month, in the period from May to September 2020. A total of 21 species of fish was recorded. The total weight representation of by-catch amounted to 78.7%. The most represented from that category were two cartilaginous species: marbled electric ray, *Torpedo marmorata* (48,63%) and common sting ray, *Dasyatis pastinaca* (28,99%). The results has shown that significant quantities of fish in the commercial fisheries are considered as a by-catch which is regularly discarded. That could have important implications in terms of conservation, management and sustainable use of the living resources.

**Key words:** commercial fisheries, discards, small-scale fisheries, catch composition, cartilaginous species

### Introduction

Commercial fishing catch toward which there is no directed effort is termed "by-catch". By-catches are generally unavoidable, as most fishing gear can select catch by size, but are non-selective with respect to the types of organisms caught. A large part or all of this by-catch is mostly discarded into the sea as whole fish, or other marine organisms, and the discards may be a significant portion of the total catch (Borges et al., 2000). According to Alverson et al. (1994), between 17.9 and 39.5 million tonnes, with an average of approximately 27 million tonnes, are estimated to be discarded each year in commercial fisheries. It is possible to identify different categories of by-catches, depending on the frequency of discards, ecological value and impact of discarded species, sensitivity of public opinion and economic importance of discarded species (CEC 1992, Alverson et al. 1994, Crean and Symes 1994, Hall 1996). Crean and Symes (1994), for example, identified the following, mostly economic and regulatory-based categories: by-catch discards (non-target species), quota discards, illegal size regulated species, species of low market value, damaged or poor quality fish, and species with no readily available market. Trammel nets are widely used in southern European waters, mainly due to their great versatility, catching a greater variety of species and a wider size range than gill nets (Erzini et al., 2006, Stergiou et al., 2006, Lucchetti et al., 2015). In small-scale coastal fishing, which ranks second in terms of catch in the Republic of Croatia, just after pelagic fishing, gill nets and entangling nets, are mainly used (Matić-Skoko et al., 2010). Trammel nets are used for their effective catch and wide range of the size fractions of the organisms caught (Stergiou et al., 2006). They are known as a non-selective fishing tool (Jardas, 1979), so a significant proportion of captured organisms

fall into the by-catch category. According to Patetta et al. (2020), they entail high discard rates, 5–44% of the total catch.

The aim of this paper is to present data on trammel net catch in the Medulin Bay, which is an important fishing area in southern Istria, and to show the ratio of economically important fish species to those that are not, and fall into the category of by-catch.

## Material and methods

For the purposes of this research, a permit from the Ministry of Agriculture was acquired, respectively a Decision of the Fisheries Directorate was obtained (KLASA UP/I-324-01/20-01/10; URBROJ: 525-13/0797-20-3). Standard bottom trammel nets were used in fishing operations; 1.8 m height and 50 m in length, 150 mm mesh outer panels and 40 mm inner panel (three thread multi-filament). During deploying, the nets were connected in a series of 5 individual nets, with a total length of 300 m. A total of 3,000 m of nets were deployed throughout the research period. The range of depths at which the nets were laid varied between 15 and 30 m. Deploying was done twice a month in the southeastern part of Medulin Bay, along the island of Bodulaš (44 ° 47'34.6 "N; 13 ° 56'31.0" E), in the period from May to September 2020. Gillnets were deployed around dusk and retrieved the next morning. Guided by the provisions of the Regulation on the form, content and manner of keeping and delivering the data on catch of commercial fishing at sea (OG, 38/2018), the fish were divided into two groups: commercially significant species and by-catch. Each fish was determined, counted and weighed, and then the weight fraction of each individual species in the total catch during the entire sampling period was determined. Specified data were compared with data from 2018 (Iveša et al., 2020), which were collected in the same way in the same sampling area from May to September. Microsoft Excel 2016 was used for data processing.

## Results and discussion

In the period from May to September 2020, in the trammel net catch in the Bay of Medulin, a total of 21 species of fish was recorded, of which 16 (76%) were economically significant, while five (24%) belonged to the by-catch category. In the fishery conducted by trammel net in the same area, and in the same annual period from May to September, 2018, Iveša et al. (2020) recorded 27 fish species, of which 30% belonged to by-catch, while the share of commercially important species amounted to 70%.

In our study, the total weight representation of economically insignificant species (by-catch) amounted to 78.7% (Figure 1). The most represented from that category were two cartilaginous species: marbled electric ray, *Torpedo marmorata* (48,63%) and common sting ray, *Dasyatis pastinaca* (28,99%). The most frequent commercially valuable species were: black scorpion fish, *Scorpaena porcus* (6,34%), common sole, *Solea solea* (2,86%) and common dentex, *Dentex dentex* (2,48 %) (Figure 2). In 2018 at the same location, in the same period, a completely opposite ratio in the weight representation of commercially significant and by-catch species was recorded in the trammel net catch (Iveša et al., 2020). The total weight representation of by-catch species amounted to only 33,04%. The largest total by-catch weight representation belonged to the same species as in 2020, marbled electric ray, *T. marmorata* (19,11 %), which was followed by east atlantic peacock wrasse, *Symphodus tinca* (9,82%) and common sting ray, *D. pastinaca* (2,38%) (author's unpublished data) (Fig 2). Of the economically important fish species, Iveša et al. (2020), recorded the highest representation of black scorpionfish, *S. porcus* (13,47 %), common smooth - hound, *Mustelus mustelus* (11,54%) and golden grey mullet, *Chelon auratus* (8,86%) in the total catch weight.

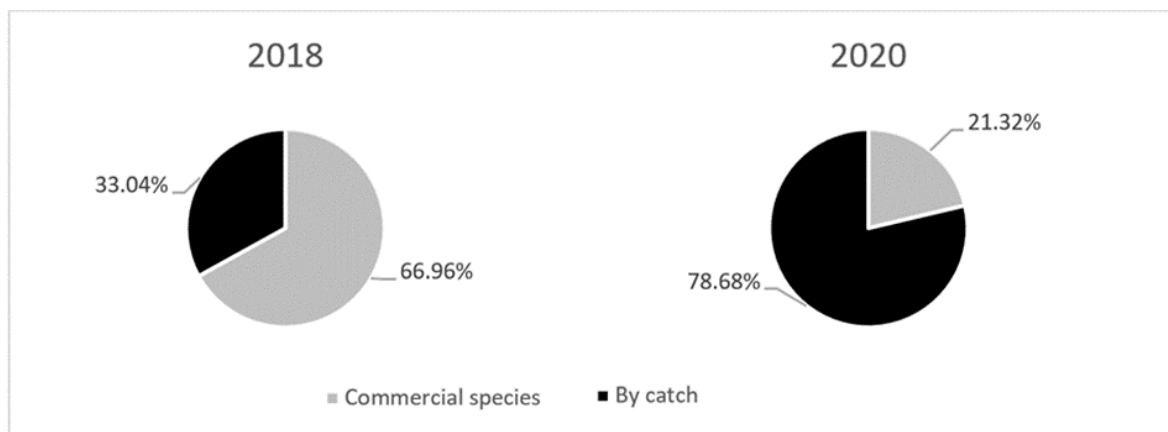


Figure 1. Comparison of the weight representation (%) of commercially significant fish species and fish that fall into the by-catch category in the catch of 2020 and 2018 (Iveša and all.,2020) during the period of May to September in the Bay of Medulin.

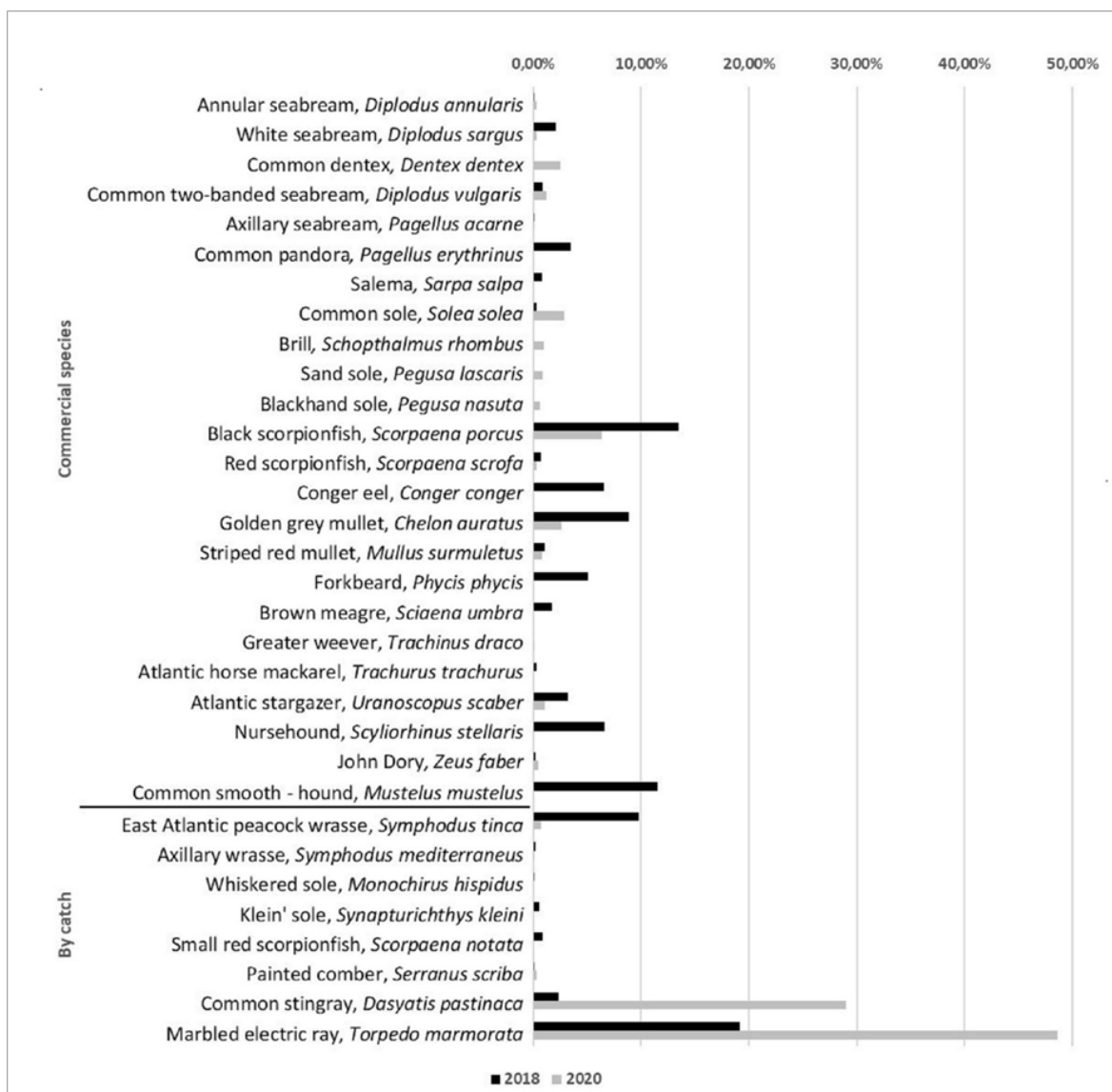


Figure 2. Comparison of the weight representation (%) of commercially significant fish species and fish that fall into the by-catch category in the catch of 2020 and 2018 (Iveša et al., 2020) during the period of May to September in the Bay of Medulin

According to Borges et al. (2001), trammel net discards are largely caused by the poor condition of the catch after the nets have been set for periods of up to 12 h or more. Some non-marketable species may also account for an important part of the discards. Good example are cartilaginous species (Class Chondrichthyes) that are represented by 21 species in regular commercial catch in Portugal, of which 17 are regularly discarded (Borges et al., 2001). Baeta et al. (2009) reported seasonality as an important factor that influence the Portuguese artisanal fisheries by-catch quantities, especially elasmobranchs trammel net catches. The lowest representation of commercially significant species in the catch of gill nets and trammel nets was found during the summer months in the Istrian coast (Draščić, 2018). Comparing our results to the results from 2018 (Iveša et al., 2020), the weight fraction of marbled electric ray, *T. marmorata* and protected common sting ray, *D. pastinaca* (OG, 144/2013; 73/16) was significantly higher in our study in comparison with the study done in 2018 (Iveša et al., 2020). Individual weight proportion of each of those two species in our research was higher than the weight of total catch of economically important species (Fig. 2). As presented results were obtained mostly during the ban of this type of trammel net use, it can be concluded that they justify the ban. But, having in mind the weight ratio of the most represented fish species in total catch, two questions arise: whether the number of *D. pastinaca* has increased in Medulin Bay, and which species, now classified as unusable by-catch, could become economically viable in the period when the trammel net use is allowed.

## Conclusion

This study has shown that significant quantities of fish in the commercial fisheries are considered as a by-catch which is regularly discarded. That could have important implications in terms of conservation, management and sustainable use of the living resources. A significant number of fish classified as by-catches are edible, but traditionally not accepted as quality fish, or their market price makes them unprofitable. Since some of them, especially some cartilaginous species, have started to appear in fish markets, an appropriate marketing approach could make them more acceptable for human consumption.

## Literature

- Alverson D.L., Freeberg M.H., Murawski S.A., Pope J.G. (1994). A global assessment of fisheries bycatch and discards. FAO Fisheries Technical Paper No. 339, Rome. 233pp.
- Borges T.C., Erzini K., Bentes L., Costa M.E., Gonçalves J.M.S., Lino P.G., Pais C., Ribeiro J. (2001). By-catch and discarding practices in five Algarve (southern Portugal) meatiers. *Journal of Applied Ichthyology*, 17: 104-114.
- CEC (1992). Report from the Commission to the Council on the discarding of fish in Community fisheries: causes, impacts and solutions. Commission of the European Communities, Brussels. 423pp.
- Crean K., Symes D. (1994). The discards problem: towards a European solution. *Marine Policy*, 18: 422-434.
- Draščić A. (2018). Sezonska dinamika ulova mrežama stajaćicama uz zapadnu obalu Istre. Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, 2018.
- Erzini K., Gonçalves J.M.S., Bentes L., Moutopoulos D.K., Casal J.A.H., Soriguer M.C., Puente E., Errazkin L.A., Stergiou K.I. (2006). Size selectivity of trammel nets in southern European small-scale fisheries. *Fisheries Research*, 79 (1–2): 183–201.
- Hall A. M. (1996). On bycatch. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6: 319-352.
- Iveša, N., Špelić I., Gelli M., Castelletto A., Piria M., Gavrilović A. (2020). Fish catch analysis of the „poponica“ net in Bay of Medulin. 55th Croatian and 15th International Symposium of Agriculture, 16. – 21. February 2020., Vodice, Croatia. Proceedings, 328 – 333.
- Jardas I. (1979). Što i koliko se lovi poponicama na istočnom Jadranu? *Morsko ribarstvo*, 2-3: 51-54.



- Lucchetti A., Buglioni G., Conides A., Klaoudatos D., Sartor P., Sbrana M., Spedicato M-T., Stamatopoulos C. (2015). Technical measures without enforcement tools: is there any sense? A methodological approach for the estimation of passive net length in small scale fisheries. *Mediterranean Marine Science* 16 (1): 82–89.
- Matić-Skoko S., Staglačić N., Kraljević M., Pallaoro A., Tutman, P., Dragičević B., Grgičević R., Dulčić J. (2010). Croatian artisanal fisheries and the state of its littoral resources on the threshold of entering the EU: effectiveness of conventional management and perspectives for the future. *Acta Adriatica* 51 (1): 9-33.
- OG 38/2018. Regulation on the form, content and manner of keeping and delivering the data on catch of commercial fishing at sea. *Official Gazette of the Republic of Croatia* 38/2018.
- OG 144/2013; 73/16. Regulation on strictly protected species. *Official Gazette of the Republic of Croatia* 144/2013; 73/16.
- Petetta A., Vasapollo C., Virgili M., Bargion eG., Lucchetti A. (2020). Pots vs trammel nets: a catch comparison study in a Mediterranean small-scale fishery. *PeerJ* 8:e9287 DOI 10.7717/peerj.9287.
- Stergiou K.I., Moutopoulos D.K., Soriguer M.C., Puente E., Lino P.G., Zabala C., Monteiro P., Errazkin L.A., Erzini K. (2006). Trammel net catch species composition, catch rates and métiers in southern European waters: a multivariate approach. *Fisheries Research*, 79: 170–182.

## Sastav prilova mreže poponice u Medulinskom zaljevu

### Sažetak

Cilj ovog rada je predstaviti podatke o ulovu poponice u Medulinskom zaljevu te prikazati omjer gospodarski važnih vrsta riba i onih koje to nisu, a spadaju u kategoriju prilova. Mreža je polagana dva puta mjesečno u razdoblju od svibnja do rujna 2020. Utvrđena je ukupno 21 vrsta ribe. Ukupna masena zastupljenost prilova u ukupnom ulovu iznosila je 78,7 %. Najzastupljenije iz te kategorije bile su dvije hrskavičnjače: drhtulja šarulja, *Torpedo marmorata* (48,63 %) i žutuga, *Dasyatis pastinaca* (28,99 %). Maseni udio obje vrste, drhtulje šarulje i žutuge, pojedinačno je bio znatno veći od ukupne mase ulova ekonomski važnih vrsta. Rezultati su pokazali da se značajne količine ribe u gospodarskom ribolovu smatraju prilovom koji se redovito odbacuje. To bi moglo imati važne implikacije u smislu očuvanja, upravljanja i održivog korištenja živih resursa.

**Ključne riječi:** gospodarski ribolov, odbačeni ulov, mali obalni ribolov, sastav lovina, hrskavičnjače

## Ihtiofauna Aljmaškog rita

Dinko Jelkić<sup>1</sup>, Anđelko Opačak<sup>1</sup>, Vlatka Mihaljević<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (djelkic@fazos.hr)

<sup>2</sup>Osnovna škola Josipovac, Osječka 77a, Josipovac, Hrvatska

### Sažetak

Na području Aljmaškog rita utvrđeno je 16 vrsta riba, 13 vrsta u Sarvaškoj bari i 14 vrsta u Bjelobrdskoj bari. Na obje lokacije dominiraju vrste iz porodice Leuciscidae, a obična uklija (*Alburnus alburnus*) dominira u abundanci na oba lokaliteta, tako je u Sarvaškoj bari zastupljena sa 77,31 %, dok je u Bjelobrdskoj bari zastupljena s udjelom od 66,49 %. U ukupnoj masi na lokaciji Sarvaška bara dominira štika (*Esox lucius*) s 56,45 %, dok na lokaciji Bjeobrdska bara dominira babuška (*Carassius gibelio*) sa 66,17 %. Utvrđene su četiri strane vrste riba: babuška (*Carassius gibelio*), bezribica (*Pseudorasbora parva*), sunčanica (*Lepomis gibbosus*) i bijeli glavaš (*Hypophthalmichthys molitrix*), ali i pet ugroženih vrsta te veliki vijun (*Cobitis elongata*) i piškur (*Misgurnus fossilis*) koje su strogo zaštićene vrste.

**Ključne riječi:** riblji fond, ugrožene vrste, zaštićene vrste, Drava, Dunav

### Uvod

Slatkovodne ribe su važan dio svakog vodenog staništa te ujedno imaju socio-ekonomsku vrijednost za društvo (Arlinghaus i Cooke, 2009.). RIBE čine više od polovice svih vrsta kralježnjaka vodenog sustava te pridonose biološkoj raznolikosti i funkcioniranju vodenih ekosustava (Jennings i sur., 2008.). Koncentriranje ljudi u naseljima koja se nalaze u neposrednoj blizini vodenih ekosustava, dovodi do različite razine antropogenih pritiska koji mogu uzrokovati degradaciju vodenih staništa (Halpern i sur., 2015., Ban i sur., 2010.). Jedna od takvih situacija u Hrvatskoj je antropogeni utjecaj na područje Aljmaškog rita. Aljmaški rit obuhvaća područje desne obale rijeke Drave od 12. rkm te desnu obala rijeke Dunav od ušća Drave pa do Aljmaša (1380. rkm) te je ukupna površina Aljmaškog rita oko 26 km<sup>2</sup>. Unutar Aljmaškog rita nalazi se nekoliko kanala: Žuta voda, Stankov Bogaz, Malo Renovo, Paljevinski Bogaz i Aljmaški Bogaz, te dvije bare: Sarvaška bara i Bjelobrdska bara za koje se ponekad umjesto termina bara koristi i termin stara Drava. Naime, postojeće dvije bare su nekada bili meandri rijeke Drave, ali je krajem 19. i početkom 20. stoljeća provedbom regulacijskih radova presječeno nekoliko posljednjih meandara rijeke Drave prije njezinog ušća u Dunav te je formirano sadašnje glavno korito Drave i izgled ušća u Dunav (Feletar, 2018.). Tako su postojeći meandri pretvoreni u rukavce i bare, a prekinuti kontakt s glavnim tokom Drave kod prosječnih vodostaja spriječilo je kontinuitet ispiranja sedimenta. Uz to, izostanak regulacijskog održavanja dovelo je do ubrzane sukcesije biljnih zajednica i prekida hidrološke veze Aljmaškog rita s rijekom Dravom kod niskih i srednjih vodostaja. Kao posljedica navedenog, nastupilo je daljnje isušivanje vodenih i močvarnih staništa te se smanjilo vodeno ogledalo koje ovisi samo o vodostaju Drave i Dunava. Aljmaški rit, čak i u ovom degradiranom stanju još uvijek pruža raznolika staništa za ihtiofaunu te je napravljeno inventarsko uzorkovanje s ciljem utvrđivanja prisutnosti ribljih vrsta, zastupljenost stranih i invazivnih vrsta riba te prisutnost ugroženih i strogo zaštićenih vrsta riba, pogotovo što su podaci o stanju ihtiofaune u Aljmaškom ritu slabo objavljeni u znanstvenoj literaturi.

## Materijal i metode

Inventarsko uzorkovanje ihtiofaune obavljeno je 22. rujna 2020. godine na dvije lokacije unutar Aljmaškog rita: Sarvaška bara i Bjelobrdska bara. Prilikom terenskog uzorkovanja ihtiofaune koristila se metoda ulova ribe električnom strujom (CEN, 2003.). Uzorkovanje na predmetnim lokacijama obavljeno je ribolovnim elektroagregatom iz čamca. Korišten je elektroribolovni agregat tip EL 65 II, proizvođača AGK kronawitter, izlazne snage 13 kW, DC (direct current), bez pulsatora u trajanju 60 min. Uzorkovanje je obavljeno u priobalnom području ukupne dužine minimalno 1.000 metara, razdvojeno po nekoliko segmenata kako bi se obuhvatili najvažniji tipovi staništa na predmetnim lokacijama (vrsta sedimenta, brzina toka, dostupna skloništa riba i sl.). Identifikacija ulovljenih riba obavljena je na temelju vanjskih morfoloških karakteristika prema determinacijskim ključevima (Kottelat i Freyhof, 2007.). Sistematski prikaz ulovljenih vrsta riba prikazan je prema porodici i rodu sukladno aktualnom popisu ribljih vrsta (Čaleta i sur., 2019.). Na ulovljenim primjercima riba utvrđene su sljedeće tjelesne mjere: totalna dužina (TL – total length), standardna dužina (SL) te visina tijela (H). Utvrđivanje tjelesnih mjera ulovljenih primjeraka riba obavljeno je pomoću ihtiometra, prema uputama Murphy i Willis (1996.). Riba ulovljena tijekom elektroribolova držana je u aeriranoj vodi. Po završetku postupka mjerenja, native (autohtone) vrste su bile vraćene na lokaciji uzorkovanja. Riba je bila vraćena u vodu uz obalu te je nakon adaptacije na uvjete dobrovoljno otplivala. Strane vrste riba iz ulova nisu vraćene u vodu sukladno uputama o sprječavanju unošenja i širenja stranih te invazivnih stranih vrsta (NN, 2018., 2019.). Tijekom uzorkovanja ihtiofaune korišten je Garmin GPSMAP 78s te su izrađeni kartografski prikazi rute uzorkovanja (Slika 1 i 2).



Slika 1. Karta Sarvaške bare s označenim transektom uzorkovanja riba



Slika 2. Karta Bjelobrdske bare s označenim transektom uzorkovanja riba

## Rezultati i rasprava

Tijekom inventarskog uzorkovanja ukupno su ulovljene 1.294 jedinke, od čega 921 jedinka na lokaciji Sarvaška bara te 373 jedinki na lokaciji Bjelobrdska bara. Ukupno je utvrđeno 16 vrsta riba na području Aljmaškog rita, od toga 13 vrsta na lokaciji Sarvaška bara te 14 vrsta na lokaciji Bjelobrdska bara. Ovim istraživanjem utvrđene su tri vrste više nego u prethodnom istraživanju Aljmaškog rita (Damjanović i sur., 2019.). Na obje lokacije najzastupljeniji je red šaranki (Cypriniformes) koji je na lokaciji Sarvaška bara zastupljen sa sedam porodica ili 76,9 % od ukupnog broja utvrđenih vrsta (Tablica 1). Red šaranki zastupljen je također sa sedam vrsta na lokaciji Bjelobrdska bara koje ukupno čine 84,6 % utvrđenih vrsta (Tablica 2). U Sarvaškoj bari najzastupljenija je porodica klenova (Leuciscidae) sa šest vrsta dok su ostale porodice zastupljene s po jednom vrstom. U Bjelobrdskoj bari također je najzastupljenija porodica Leuciscidae, s pet vrsta, porodica

Cobitidae i Cyprinidae zastupljene s dvije vrste, dok su ostale porodice zastupljene s jednom vrstom. Obična uklija (*Alburnus alburnus*) dominira u abundanci na oba lokaliteta tako je u Sarvaškoj bari zastupljena sa 77,31 %, dok je u Bjelobrdskoj bari zastupljena s udjelom od 66,49 %. U ukupnoj masi na lokaciji Sarvaška bara dominira štika (*Esox lucius*) s 56,45 %, dok na lokaciji Bjelobrdska bara dominira babuška (*Carassius gibelio*) s 66,17 %.

Tablica 1. Kvalitativni i kvantitativni sastav riba na lokaciji Sarvaška bara

Porodica	Hrvatsko ime	Znanstveno ime	Abundanca		Biomasa	
			N	%	kg	%
Cobitidae	veliki vijun	<i>Cobitis elongata</i>	2	0,22	0,006	0,08
Acheilognathidae	gavčica	<i>Rhodeus amarus</i>	10	1,09	0,027	0,38
Cyprinidae	babuška	<i>Carassius gibelio</i>	5	0,54	0,254	3,54
Gobionidae	bezribica	<i>Pseudorasbora parva</i>	91	9,88	0,091	1,27
Leuciscidae	deverika	<i>Abramis brama</i>	1	0,11	0,022	0,31
	obična uklija	<i>Alburnus alburnus</i>	712	77,31	1,304	18,15
	bolen	<i>Leuciscus aspius</i>	22	2,39	0,680	9,47
	jez	<i>Leuciscus idus</i>	18	1,95	0,201	2,80
	bodorka	<i>Rutilus rutilus</i>	30	3,26	0,358	4,98
	crvenperka	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	3	0,33	0,033	0,46
Esocidae	štuka	<i>Esox lucius</i>	17	1,85	4,055	56,45
Centrarchidae	sunčanica	<i>Lepomis gibbosus</i>	6	0,65	0,006	0,08
Percidae	grgeč	<i>Perca fluviatilis</i>	4	0,43	0,146	2,03
<b>UKUPNO:</b>			<b>921</b>	<b>100,00</b>	<b>7,183</b>	<b>100,00</b>

Tablica 2. Kvalitativni i kvantitativni sastav riba na lokaciji Bjelobrdska bara

Porodica	Hrvatsko ime	Znanstveno ime	Abundanca		Biomasa	
			N	%	N	%
Cobitidae	veliki vijun	<i>Cobitis elongata</i>	2	0,54	0,004	0,11
	piškur	<i>Misgurnus fosillis</i>	1	0,27	0,042	1,16
Cyprinidae	babuška	<i>Carassius gibelio</i>	54	14,48	2,392	66,17
	šaran	<i>Cyprinus carpio</i>	8	2,14	0,180	4,98
Gobionidae	bezribica	<i>Pseudorasbora parva</i>	29	7,77	0,058	1,60
	obična uklija	<i>Alburnus alburnus</i>	248	66,49	0,186	5,15
	bolen	<i>Leuciscus aspius</i>	1	0,27	0,012	0,33
Leuciscidae	jez	<i>Leuciscus idus</i>	1	0,27	0,030	0,83
	bodorka	<i>Rutilus rutilus</i>	10	2,68	0,040	1,11
	crvenperka	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	9	2,41	0,292	8,08
Xenocypridide	bijeli glavaš	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	1	0,27	0,037	1,02
Esocidae	štuka	<i>Esox lucius</i>	4	1,07	0,216	5,98
Centrarchidae	sunčanica	<i>Lepomis gibbosus</i>	1	0,27	0,008	0,22
Percidae	grgeč	<i>Perca fluviatilis</i>	4	1,07	0,118	3,26
<b>UKUPNO:</b>			<b>373</b>	<b>100,00</b>	<b>3,615</b>	<b>100,00</b>

Na obje lokacije utvrđene su strane vrste, u Sarvaškoj bari utvrđene su tri strane vrste, dok su u Bjelobrdskoj bari utvrđene četiri strane vrste od čega su: babuška (*Carassius gibelio*), bezribica (*Pseudorasbora parva*) i sunčanica (*Lepomis gibbosus*) potvrđene na oba lokaliteta, a bijeli glavaš (*Hypophthalmichthys molitrix*) utvrđen je samo u Bjelobrdskoj bari. Babuška ima relativno visoku zastupljenost u abundanci Bjelobrdske bare (14,48 %) što nije

iznenađujuće s obzirom kako je prilagođena životu u nizinskim rijekama, ima odgovarajuću hranu i ekološke uvjete te je evidentan izostanak predatorskih vrsta riba. Bezribica i sunčanica su vrste koje se nalaze na popisu invazivnih vrsta od značaja za Europsku uniju (EU, 2014) te je njihova prisutnost zabrinjavajuća. Ove lokacije više pogoduju bezribici, na što ukazuje visoka zastupljenost u abundanci Sarvaške bare s 9,88 % i 7,77 % u Bjelobrdskoj bari, dok je sunčanica ipak slabo zastupljena (0,65 % i 0,27 %). Situacija s bezribicom ipak je povoljnija u Sarvaškoj bari bez obzira što ima veću zastupljenost u abundanci nego u Bjelobrdskoj bari. Naime, u Sarvaškoj bari utvrđeno je 17 primjeraka štuke (*Esox lucius*) te je dominantni predator u ekosustavu, a poznato je kako se predatori prilagode na novi izvor hrane te se mogu koristiti kao metoda suzbijanja povećanja populacije strane invazivne vrste (Carlsson i sur., 2011., Reyjol i sur., 2010., Santos i sur., 2009.). Na lokacijama Sarvaška i Bjelobrdska bara ukupno je utvrđeno pet ribljih vrsta u dvije kategorije ugroženosti (ugrožene vrste – EN i osjetljive vrste – VU). Na obje lokacije utvrđene su osjetljive vrste (VU): veliki vijun (*Cobitis elongata*), bolen (*Leuciscus aspius*) i jez (*Leuciscus idus*) dok je u Bjelobrdskoj bari utvrđena vrsta piškur (*Misgurnus fossilis*) koja također pripada osjetljivim vrstama te ugrožena vrsta (EN), šaran (*Cyprinus carpio*) izdužene forme tijela. Ujedno, veliki vijun i piškur su također strogo zaštićene vrste (NN, 2013; 2016). Damjanović i sur., (2019.) navode kako su utvrdili piškura u Sarvaškoj bari, što samo ukazuje kako ova vrsta konstantno obitava na području Aljmaškog rita. Kako bi adekvatno zaštitili ugrožene slatkovodne vrste riba potrebno je identificirati ključna staništa za održavanje njihovih populacija (Fausch i sur., 2002.). Upravo područje Aljmaškog rita ima potencijal za održavanje populacija ugroženih i strogo zaštićenih vrsta riba na tom segmentu rijeka Drave i Dunava.

## Zaključak

Područje Aljmaškog rita ima karakterističnu ihtiofaunu za poplavno područje nizinske rijeke. Evidentan je nedostatak ekonomski važnih vrsta (šarana, smuđa i soma), ali istovremeno su zabilježene ugrožene i strogo zaštićene vrste riba. Buduća istraživanja obaviti će se s ciljem dopune liste prisutnih vrsta riba te određivanje mjera upravljanja područjem u svrhu smanjivanja invazivnih vrsta i zaštite ugroženih i strogo zaštićenih vrsta riba.

## Literatura

- Arlinghaus R., Cooke S. J. (2009). Recreational fisheries: socioeconomic importance, conservation issues and management challenges. *Recreational hunting, conservation and rural livelihoods: science and practice*, 39-58.
- Ban N. C., Alidina H. M., Ardron J. A. (2010). Cumulative impact mapping: Advances, relevance and limitations to marine management and conservation, using Canada's Pacific waters as a case study. *Marine Policy*, 34(5): 876-886.
- Carlsson N. O., Bustamante H., Strayer D. L., Pace M. L. (2011). Biotic resistance on the increase: native predators structure invasive zebra mussel populations. *Freshwater Biology*, 56(8): 1630-1637.
- CEN (2003). Water quality–sampling of fish with electricity. European Committee for Standardization. 14011:2003
- Čaleta M., Marčić Z., Buj I., Zanella D., Mustafić P., Duplić A., Horvatić S. (2019). A Review of Extant Croatian Freshwater Fish and Lampreys: Annotated list and distribution. *Croatian Journal of Fisheries*, 77(3): 137-234.
- Damjanović I., Opačak A., Jelkić D., Sadiković J., Ozimec S., Lužaić R. (2019). Procjena sastava ihtiocenoze Stare Drave kod Sarvaša inventarskim elektroribolovom. U: Ozimec S., Bogut I., Bogdanović T., Jurčević Agić I., Rožac V., Stević F., Popović Ž., Bolšec B., Vereš M. (ur.) 8. simpozij s međunarodnim sudjelovanjem: Kopački rit jučer, danas, sutra 2019. - Zbornik sažetaka (Book of Abstracts).

- Fausch K.D., Torgersen C.E., Baxter C.V., Li H.W. (2002). Landscapes to riverscapes: bridging the gap between research and conservation of stream fishes. *Bioscience*, 52: 483–498.
- Feletar D. (2018). Prinosi za povijest splavarstva na Dravi u 19. i 20. stoljeću. Rad Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti: Razred za društvene znanosti, (535= 53), 155-236.
- Halpern B. S., Frazier M., Potapenko J., Casey K. S., Koenig K., Longo C., Lowndes J. S., Rockwood R. C., Selig E. S., Selkoe K. A., Walbridge S. (2015). Spatial and temporal changes in cumulative human impacts on the world's ocean. *Nature communications*, 6(1): 1-7.
- Jennings S., Mélin F., Blanchard J. L., Forster R. M., Dulvy N. K., Wilson R. W. (2008). Global-scale predictions of community and ecosystem properties from simple ecological theory. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1641): 1375-1383.
- Kottelat M., Freyhof J. (2007). Handbook of European freshwater fish. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany. 646p.
- Murphy B.R., Willis, D.W. (Eds.). (1996). *Fisheries techniques* (2nd ed., p. 732). Bethesda, Maryland: American Fisheries Society.
- NN (2013). Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama. *Narodne novine d.d.*, 144/13, Zagreb.
- NN (2016). Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o strogo zaštićenim vrstama. *Narodne novine d.d.*, 73/16, Zagreb.
- NN (2018). Zakon o sprječavanju unošenja i širenja stranih te invazivnih stranih vrsta i upravljanju njima. *Narodne novine d.d.*, 15/18, Zagreb.
- NN (2019). Zakon o izmjenama i dopuni Zakona o sprječavanju unošenja i širenja stranih te invazivnih stranih vrsta i upravljanju njima. *Narodne novine d.d.*, 14/19, Zagreb.
- EU (2014). Regulation (EU) No 1143/2014 of the European Parliament and of the Council of 22 October 2014 on the prevention and management of the introduction and spread of invasive alien species.
- Reyjol Y., Brodeur P., Mailhot Y., Mingelbier M., Dumont P. (2010). Do native predators feed on non-native prey? The case of round goby in a fluvial piscivorous fish assemblage. *Journal of Great Lakes Research*, 36(4): 618-624.
- Santos A. F. G. N., Santos L. N., García-Berthou, E., Hayashi C. (2009). Could native predators help to control invasive fishes? Microcosm experiments with the Neotropical characid, *Brycon orbignyanus*. *Ecology of Freshwater Fish*, 18(3): 491-499.

## Ichthyofauna of Aljmaški rit

### Abstract

In the area of Aljmaški rit, 16 fish species were determined, 13 species in Sarvaška bara and 14 species in Bjelobrdaska bara. Both locations are dominated by species from the Leuciscidae family, and the Common bleak (*Alburnus alburnus*) dominates in abundance at both localities, thus in Sarvaška bara represented with 77.31%, while in Bjelobrdaska bara it's 66.49%. The total mass at the location Sarvaška bara is dominated by Pike (*Esox lucius*) with 56.45%, while at the location Bjeobrdaska bara is dominated by Prussian carp (*Carassius gibelio*) with 66.17%. Four foreign species of fish have been identified: Prussian carp (*Carassius gibelio*), Stone moroko (*Pseudorasbora parva*), Pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) and Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), also five endangered species were present, as well as the Balkan spined loach (*Cobitis elongata*) and the Weatherfish (*Misgurnus fossilis*) which are strictly protected species.

**Key words:** endangered species, strictly protected species, Drava River, Danube River

## The utilisation of three woody species by European mouflon in Mediterranean part of Croatia

Krešimir Krapinec<sup>1</sup>, Marina Vranić<sup>2</sup>, Goran Kiš<sup>3</sup>, Darko Uher<sup>2</sup>

<sup>1</sup> University in Zagreb, Faculty of Forestry, Department for Forest Protection and Wildlife Management, Svetošimunska cesta 25 10 000, Zagreb, Croatia (e-mail: krapinec@sumfak.hr)

<sup>2</sup> Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Forage and Grassland, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Croatia

<sup>3</sup> Faculty of Agriculture, Department of Animal Nutrition, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Croatia

### Abstract

The paper analyzes utilisation of three woody species of macchia shrubland by European mouflon: manna ash (*Fraxinus ornus*), crack phillyrea (*Phillyrea latifolia*) and laurestine (*Viburnum tinus*). All three species are palatable species for small ruminants in Mediterranean area. Sprout length was used as a preference criterion. The research was conducted in early June on young sprouts from the stump. All three woody species had the same number of browsed sprouts ( $35.02 \pm 2.42\%$  SE;  $\chi^2 = 0.8495$ ;  $p = 0.654$ ). Compared to the same diameter, manna ash has longer sprouts than crack phillyrea and laurestine, and laurestine has significantly longer sprouts than crack phillyrea. The utilisation of sprouts shows a significant correlation with the diameter of the base of the sprouts, and is highest in the manna ash. Crack phillyrea has the lowest efficiency of sprouts because mouflons consume up to 34,1 % of branches and up to 18,2 % of stump sprouts.

**Key words:** preference ratio index, utilisation, manna ash, laurestine, crack phillyrea

### Introduction

Assessment of phytomass and its utilisation in the habitat forms the backbone in the management of wild herbivores. Until today, a number of techniques used for estimation of phytomass utilisation have been developed: estimating the percentage of browsed sprouts (Cole, 1963), counting browsed and unbrowsed sprouts on a plant (Stickney, 1966), and calculating utilised length or mass per sprout (Lyon, 1970). These latter methods (used mass or sprout length) are also the most accurate (Jensen and Scotter, 1977). Initially, the techniques were based on two length measurements. The first was performed in the autumn, with simultaneous marking of the sprouts (potentially they could be bitten), and the second measurement was done in the spring. Based on the difference in the lengths of unbrowsed (autumn) and browsed (spring) sprouts, the damage to the sprouts was calculated, i.e. their utilisation. This work was quite laborious and this technique was replaced by estimating the utilisation using regression models based on the diameter and length, or mass of the sprouts, where the work was shortened by 6.5 times (Shafer, 1963). Later, the same method was refined so that the utilisation estimate was based on counting or estimating the percentage of bitten sprouts (Stickney, 1966; Jensen and Scotter, 1977). Unfortunately, in Europe, these methods have been applied mainly to the area of Fennoscandia (Danell and Bergström, 1985; Vivås et al., 1991), but it could find its application outside that area as well. Therefore, the purpose of this paper is to analyse the utilisation of individual woody species in the Mediterranean area.

## Material and methods

The research was conducted in a fenced part of the hunting ground (877 ha) on the island of Rab (Croatia). According to Köpen's classification, the area belongs to the Cfsax'' climate type (Seletković & Katušin, 1992). From the vegetation point of view, the hunting ground belongs to the eumediterranean vegetation zone (Trinajstić, 1986). Forests make up to 95% of the habitat (forest community of holm oak and manna ash - *Fraxino orni-Quercetum ilicis* H-ić / 1956/1958), and meadows and pastures 0.3%. The dominant large game species in the hunting ground are the European mouflon (*Ovis orientalis musimon*), which was released into the area twice in spring (30 animals) and autumn (11 animals) of 1998, and the chital - *Axis axis* released in 1975 (Krapinec, 2001).

The browsing analysis was performed on a 5 m wide and 400 m long line that was clear-cut in a 26-year-old holm oak stump, during January and February 1999 (6 months after the mouflons were released into the hunting ground). At the beginning of June, twigs – stump sprouts of dominant woody species (manna ash-*Fraxinus ornus*, crack phillyrea-*Phillyrea latifolia* and laurestine-*Viburnum tinus*) and their branches showed traces of browsing. A month after the browsing was observed, the damage and the dimensions of the sprouts were measured (from 6 to 8 July 1999). Every other plant was selected. On each stump the diameter of the base (caliper) and the length of the sprout (measure stick) were measured on millimetre precision. Sprouts were classified according to the type, method of origin (stump sprouts and branches) and damage (unbrowsed and browsed). Both categories of sprouts grew in the current year (twigs), measuring 15 stumps of manna ash, 20 stumps of crack phillyrea and 20 stumps of laurestine, for a total of 4,509 sprouts.

The regression model of the dependence of the diameter and length of the sprouts was made as a power function. Comparison of sprout length within species (sprouts and twigs), between species and used sprout length between species, was made by analysis of covariance (ANCOVA) with a sprout base diameter as a predictor. In case the distribution was statistically significantly different from the normal one (Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk test), the data were transformed by Box-Cox transformation. The comparison of the number of sprouts per stump was made by Kruskal-Wallis test. Testing the difference in the number of sprouts and twigs was performed by t-test. The obtained data were analyzed using Statsoft 13.5.0.17 program (TIBCO Software Inc., 2018).

Within each plant species, the preference of sprouts was calculated, using the preference ratio index (Risenhoover, 1987) according to the pattern:  $P_i = (N_i / \sum N_j) / (E_i / \sum E_j)$ , where:  $N_i$  = number of browsed sprouts of diameter  $i$ ,  $\sum N_j$  = number of all browsed sprouts,  $E_i$  = number of all sprouts of diameter  $i$  m and  $\sum E_j$  = number of all sprouts. Utilisation was calculated according to the pattern given by Ferguson and Marsden (1977):  $U = 100 [1 - (L_R / L_T)]$ , where:  $U$  = utilisation,  $L_T$  = total length (after browsing),  $L_R$  = remaining length (after browsing). The lengths obtained by regression models were used for the calculation.

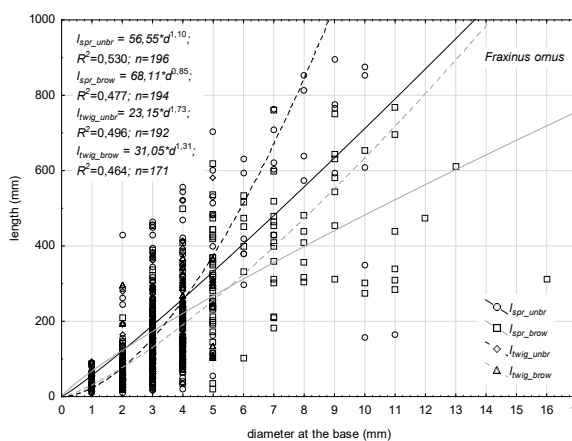
## Results and discussion

No statistically significant difference was found between species in the shares of damaged sprouts per plant ( $\chi^2 = 0.8495$ ;  $p = 0.654$ ), so that the average share of bitten sprouts was  $35.02 \pm 2.42\%$  SE). Between undamaged stump sprouts, among the species studied, there are significant differences in length. Crack phillyrea has longer stump sprouts than the manna ash ( $t = 12,468$ ;  $p < 0.0000$ ) and laurestine ( $t = 5.356$ ;  $p < 0.0000$ ), and laurestine has significantly longer sprouts than manna ash ( $t = 9.181$ ;  $p < 0.0000$ ), which can be seen from Graphs 1 to 3, although the data are equalized by the power function. The diameter defines

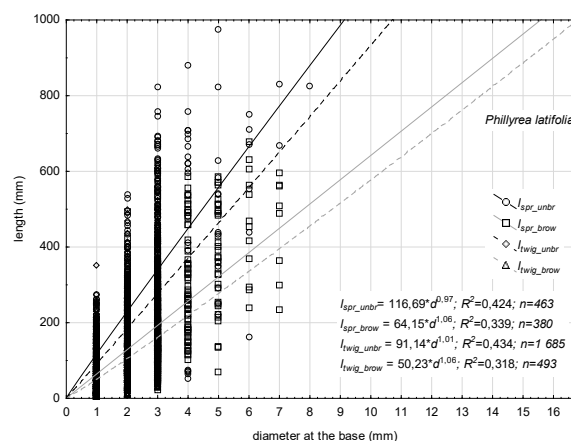


from 37.4% (laurestine, Graph 3) to 53% (manna ash, Graph 1) the length of the stump sprout. Within each species there is a significant difference between the length of stump sprouts and branches (manna ash:  $t = -2.005$ ;  $p < 0.05$ ; crack phillyrea:  $t = 2.425$ ;  $p < 0.05$ ;  $d > 0.5$  mm and laurestine:  $t = -17.012$ ;  $p < 0.0000$ ). Therefore, the preference ratio index and utilisation were calculated within each species for each diameter and mode of sprout formation separately.

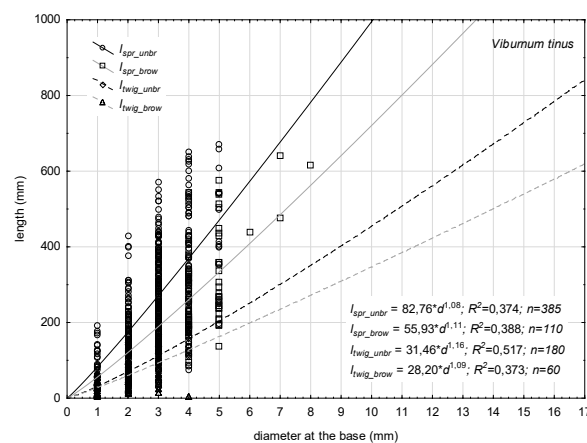
In general, so far there is no single rule about the choice of a function that will regress the length and diameter of the sprouts. Scientists mostly expressed the dependence of length on the diameter of the base of the sprouts by linear regression, and the dependence was medium ( $r^2 = 0.51$  - Rumble, 1985;  $r^2 = 0.52$  - Basile and Hutchings, 1966;). The bigger dilemma was whether to use differences in sprout lengths or masses when estimating utilisation. Namely, the estimation of sprout utilisation by applying differences in sprout mass is more accurate because the animal can selectively browse the sprout in a way that it prefers leaves, as better feed, over the sprout itself (Mahgoub et al., 1988). In addition, the dependence of sprout mass on diameter is higher (Mahgoub et al., 1988), especially if nonlinear functions are used (Telfer, 1969; Provenza and Urness, 1981; Rumble, 1985). However, in the field it is easier to measure the length than the mass of the sprouts, and calculating the utilisation based on the difference in the lengths of the sprouts is more practical (Basile and Hutchings, 1966).



Graph 1. Dependence of a sprout length on the diameter in a manna ash



Graph 2. Dependence of a sprout length on the diameter in a crack phillyrea



Graph 3. Dependence of a sprout length on the diameter in laurestine

Another problem is the large variability in the ratio of diameter to length (or mass) of sprouts. Namely, the value of the coefficients of multiple determination can vary considerably with respect to the position of the twigs on the plant (Basile and Hutchings, 1966; Jensen and Urness, 1981), exposure (Basile and Hutchings, 1966), locality (Peek et al., 1971), season (Halls and Harlow, 1971), even between individual years (Jansen and Scotter, 1977). Therefore, some authors indicate that local regression analyses should be used to calculate the utilisation of sprouts (Halls and Harlow, 1971; Peek et al., 1971), while some scientists advocate the use of so-called "Grand" models that can be applied to wider areas. Since in this paper the models were developed on plants that grew on a 200 m long transect, it is possible to draw more accurate conclusions about the way of feeding mouflon on the site from the obtained measurements.

The preference of stump sprouts generally increases with the diameter of its base (Table 1). In manna ash it is the lowest ( $r = 0.63$ ;  $p < 0.05$ ), but statistically significant, while in crack phillyrea and laurestine it is significantly higher ( $r = 0.906$ ;  $p < 0.05$ ; respectively  $r = 0.942$ ;  $p < 0.05$ ). Because the preference of sprouts is related to their distribution and abundance at the level of each plant, comparisons between woody species were made only at the level of utilisation. Mouflons use far more sprout stumps of manna ash than of crack phillyrea ( $t = 18,100$ ;  $p < 0.000$ ) and laurestine ( $t = 18,566$ ;  $p < 0.000$ ), but also uses sprout stumps of laurestine more than crack phillyrea ( $t = -4,003$ ;  $p < 0.01$ ). Although the sample size of the branches is much smaller, the order of utilisation is the same - the level of utilisation of manna ash twigs is higher than in crack phillyrea ( $t = 5,246$ ;  $p < 0.01$ ) and laurestine ( $t = 20,3$ ;  $p < 0.000$ ), i.e. laurestine twigs were utilized more strongly than crack phillyrea branches ( $t = 6,603$ ;  $p < 0,01$ ;  $d > 2$  mm).

Table 1. Preference ratio index and utilisation of sprouts according to species and diameter

Species	Preference ratio index										
	Diameter (mm)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Fraxinus ornus</i>	0,28	0,72	0,82	1,22	1,57	1,12	1,56	1,25	1,32	0,78	1,78
<i>Phillyrea latifolia</i>	0,54	1,02	1,71	2,59	2,41	2,31	2,77				
<i>Viburnum tinus</i>	0,00	0,82	0,00	2,11	2,85	4,32	4,32	4,32			
Species	Utilisation (%)										
	Diameter (mm)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Fraxinus ornus</i>	56,7	63,5	67,0	69,2	70,9	72,2	73,2	74,1	74,8	75,5	76,0
<i>Phillyrea latifolia</i>	18,2	12,9	9,6	7,2	5,3	3,7	2,3				
<i>Viburnum tinus</i>	23,8	21,8	20,6	19,7	19,0	18,5	18,0	17,6			

Table 2. Preference ratio index and utilisation of branches according to species and diameter

Species	Preference ratio index					Utilisation (%)				
	Diameter (mm)									
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<i>Fraxinus ornus</i>	0,57	0,89	1,06	1,07	1,73	61,2	71,1	75,6	78,4	80,4
<i>Phillyrea latifolia</i>	0,47	0,80	1,71			34,1	31,9	30,6		
<i>Viburnum tinus</i>	1,76	0,78	0,89	1,00		29,5	32,7	34,5	35,8	

The preference of the branches (Table 2) of manna ash and crack phillyrea increases with increasing base diameter ( $r = 0.93$ ;  $p < 0.05$ ), while in laurestine, mouflon prefers to browse the thinnest sprouts ( $P_i = 1.76$ ), however the correlation is not statistically significant.

Considering the utilisation, mouflon makes the most use of manna ash sprouts, where the utilisation range is from 56.7% for thinner sprouts to as much as 80.4% for 11 mm base diameter sprouts. In second place in terms of utilisation is laurestine, for which it could be said that its twigs are more used by mouflons (from 29.5 to 35.8%) than stump sprouts (from 17.6 to 23.8%). Mouflon uses sprouts of crack phillyrea to a much lesser extent, but it also uses a larger part of twigs (from 30.6 to 34.1%) compared to sprouts from stumps (from 2.3 to 18.2%).

Although all analysed plant species show relatively high palatability, the obtained results show that the order of plant preference in the case of mouflon is manna ash (1), laurestine (2) and crack phillyrea (3). The reason for this order of preference may be in the morphology of these three species. Compared to crack phillyrea and laurestine, which are evergreen species, manna ash is a deciduous species, with slightly larger (Herman, 1971). Crack phillyrea has tiny leathery leaves, while laurestine leaves are more than twice as large, but are covered with sparse hairs (just like sprouts). Despite being a highly palatable plant species for some species, like goats, it is also quite resistant to browsing (Sirkou et al., 2002). In arid areas, such as Mediterranean, during dry summers, areas dominated by evergreen shrubs are an important source of food for small ruminants (Rogošić, 2000). It is therefore possible that higher preference is a result of the greater juiciness, which arises from the leaves. In the forest structure of holm oak and manna ash, manna ash along with holm oak forms the backbone of the stand (Matić, 1983; Matić and Rauš, 1984). Therefore, from the point of view of preserving Mediterranean forests, the high preference of manna ash calls into question forest regeneration because it is more exposed to mouflon browsing.

## Conclusions

A comparison of the browsing of three species of macchia shrubland by the European mouflon showed that the manna ash was browsed to the highest degree. Since these are key woody species in the structure of holm oak forests, its high palatability could affect the change in the structure of these forests.

## References

- Basile J.V. and Hutchings S.S. (1966). Twig Diameter-Length-Weight Relations Of Bitterbrush. *J Range Manage.* 19(1): 34-38.
- Cole G. F. (1963). Range survey guide. Grand Teton Nat. Hist. Ass. Nat. Park. Serv., Dep. Of the Interior, 22 pp.
- Danell, K. and Bergström, R. (1985). Studies on Interactions Between Moose and Two Species of Birch in Sweden. A Review. In: *Proceedings-Symposium on Plant-Herbivore Interactions*, Snowbird, Utah, August 7-9. Eds.: Provenza, F.D., Flinders, J.T., McArthur, E.D., Ogden, 48-57 pp.
- Ferguson R.B. and Marsden M.A. (1977). Estimating Overwinter Bitterbrush Utilisation from Twig Diameter-Length-Weight Relations. *J Range Manage.* 30(3): 231-235.
- Halls L.K. and Harlow R.F. (1971). Weight-Length Relations in Flowering Dogwood Twigs. *J Range Manage.* 24(3): 236-237.
- Herman J. (1971). *Šumarska dendrologija*. Stanbiro, Zagreb, 470 pp.
- Jensen C.H. and Scotter G.W. (1977). A Comparison of Twig-length and Browsed-twig Methods of Determining Browse Utilisation. *J Range Manage.* 30(1): 64-67.

- Jensen C.H. and Urness P. J. (1981). Establishing Browse Utilisation from Twig Diameters. *J Range Manage.* 34(2): 113-115.
- Krapinec, K. (2001). Struktura ishrane muflona (*Ovis ammon* L.) i jelena aksisa (*Axis axis* Erx.) na području otoka Raba. Magistarski rad; 107 pp.
- Lyon L.J. (1970). Length- and weight-diameter relations of serviceberry twigs. *J Wildl Manage.* 34(2): 456-460.
- Mahgoub El F., Pieper R.D., Ortiz M. (1988). Use of leader lengths and diameters to estimate production and utilisation of *Cercocarpus breviflorus*. *J Range Manage.* 41(2): 153-155.
- Matić, S. (1983). Stand structure of holm oak stands (*Orno-Quercetum ilicis* H-ić, 1958) on the island of Rab (in Croatian). Zbornik Roberta Visianija Šibenčanina, *Povremena izdanja muzeja grada Šibenika*, Svezak 10: 267-280.
- Matić, S., Rauš, Đ. (1986). Umwandlung der Macchien und der Stockwalder der Steineiche in Bestände höherer waldbaulichen Formen (in Croatian with German summary). *Glas. Šum. Pokuse*, posebno izd. 2: 79-86.
- Peek J.M., Krefting L.W., Tappeiner J.C. (1971). Variation in twig diameter-weight relationships in Northern Minnesota. *J Wildlife Manage.* 35(3): 501-507.
- Provenza F.D. and Urness P.J. (1981). Diameter-Length-Weight Relations for Blackbrush (*Coleogyne ramosissima*) Branches. *J Range Manage.* 34(3): 215-217.
- Rogošić, J., 2000: Management of the Mediterranean Natural Resources (in Croatian). Školska naklada, Mostar, 351 pp.
- Rumble, M. (1985). Using twig diameters to estimate browse utilisation on three shrub species in Southeastern Montana. In: *Proceedings-Symposium on Plant-Herbivore Interactions*, Snowbird, Utah, August 7-9. Eds.: Provenza, F.D., Flinders, J.T., McArthur, E.D., Ogden, 172-175 pp.
- Seletković Z. and Katušin Z. (1992). Croatian Climate. In: Rauš, Đ. (ed.) *Forests of Croatia*, Šumarski fakultet Zagreb i Hrvatske šume p. o. Zagreb, 13-19.
- Shafer E.L. (1963). The twig-count method for measuring hardwood deer browse. *J Wildlife Manage.* 27(3): 428-437.
- Sirkou D., Alados C. L., Papanastatis V. P., Vrahnakis M. S., Iovi K., Finer M.L., Ispikoudis I. (2002). Assessment of grazing effects on mediteranean shrubs *Phillyrea latifolia* L. and *Cistus monspeliensis* L. with developmental instability and fractal dimension. *JME.* 3(4): 19-29.
- Stickney P.F. (1966). Browse utilisation based on percentage of twig numbers browsed. *J Wildl Manage.* 30(1): 204-206.
- Telfer E.S. (1969). Twig weight-diameter relationships for browse species. *J Wildl Manage.* 33(4): 917-921.
- TIBCO Software Inc. (2018). Statistica (data analysis software system), version 13. <http://tibco.com>.
- Trinajstić I. (1986). The phytogeographical division of the forest vegetation of the Eastern-Adriatic Mediterranean region — the starting point in the organization of managing the Mediterranean forests (in Croatian with English summary). *Annales Pro Experimentis Foresticis Editio Peculiaris*, Num. II: 53-65.
- Vivås, H.J., Sæther, B.-E., Andersen, R. (1991). Optimal twig-size selection of a generalist herbivore, the moose *Alces alces*: Implications for plant – herbivore interactions. *J Anim Ecol* 60(2): 395-408.

## Botaničko podrijetlo i fizikalno-kemijska svojstva bagremova meda s područja Krapinsko-zagorske županije

Martina Krog<sup>1</sup>, Lidija Svečnjak<sup>1</sup>, Saša Prđun<sup>1</sup>, Marica Dražić<sup>2</sup>, Dragan Bubalo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (e-mail: dbubalo@agr.hr)

<sup>2</sup>Ministarstvo poljoprivrede, Ul. grada Vukovara 78, 10000, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Cilj je istraživanja bio utvrditi botaničko podrijetlo i fizikalno-kemijska svojstva uzoraka bagremova meda prikupljenih s različitih lokaliteta Krapinsko-zagorske županije tijekom dvije proizvodne sezone, kao i korelaciju između uniflornosti meda i odabranih fizikalno-kemijskih parametara (električne provodnosti i pH vrijednosti meda). Udio se peludnih zrnaca bagrema kretao 24 – 80 %. Statistički značajno niža vrijednost električne provodnosti utvrđena je u uzorcima meda iz 2016. (0,15 mS/cm) u odnosu na uzorke iz 2017. (0,19 mS/cm). U uzorcima meda iz 2016. je bilo utvrđeno statistički značajno viši sadržaj HMF-a (4,98 mg/kg) u odnosu na uzorke iz 2017. (3,69 mg/kg). Između uniflornosti i pH vrijednosti meda utvrđena je srednje jaka pozitivna korelacija ( $r=0,36$ ), dok je između električne provodnosti i uniflornosti meda srednje jaka negativna korelacija ( $r=-0,47$ ).

**Ključne riječi:** bagremov med, Krapinsko-zagorska županija, botaničko podrijetlo, fizikalno-kemijska svojstva

### Uvod

Floristički resursi te reljefni i klimatski čimbenici određenog područja u velikoj mjeri utječu na specifičnost meda. S obzirom na pašni potencijal odnosno bagremove sastojine, područje Krapinsko-zagorske županije sa svojim klimatsko-zemljopisnim uvjetima, predstavlja jedinstveno područje na razini Republike Hrvatske. Jedna od posebnosti Krapinsko-zagorske županije svakako je njezin reljef s mnoštvom brežuljaka. Takav reljef omogućuje manji utjecaj kasnih proljetnih mrazova na sastojine bagrema što utječe na produljenje cvatnje, jer ona započinje na zaštićenim nižim te se nastavlja na višim lokalitetima. Melisopalinološkom analizom utvrđuje se, kako botaničko, tako i zemljopisno podrijetlo meda. Ovisno o udjelu konkurentnih biljnih vrsta, razdoblju njihove cvatnje, kao i vremenu vrcanja, udio se nektara glavne biljne vrste u medu mijenja. Zbog toga botaničko podrijetlo te kemijski sastav i senzorska svojstva između uzoraka bagremova meda mogu značajno varirati. Cilj je ovog rada bio utvrditi botaničko podrijetlo i fizikalno-kemijska svojstva bagremova meda te korelaciju između uniflornosti (udjela peludnih zrnaca bagrema) i fizikalno kemijskih parametara (električne provodnosti i pH vrijednosti).

### Materijali i metode

Istraživanje je bilo provedeno na 51 uzorku meda prikupljenom s ocjenjivanja meda Krapinsko-zagorske županije 2016. i 2017. godine. Botaničko podrijetlo prikupljenih uzoraka meda utvrđeno je kvalitativnom melisopalinološkom analizom (Von der Ohe i sur., 2004.). Fizikalno-kemijski parametri ispitivanih uzoraka bagremova meda određeni su sukladno standardiziranim metodama propisanim od strane Međunarodne komisija za med (IHC, 2009.) te u skladu s europskom legislativom (EU Council directive 2001/110/EC, 2002.). U uzorcima meda analiziran je udio vode (refraktometrijska metoda), električna

provodnost (konduktometrijska metoda), pH vrijednost (potenciometrijska metoda) te sadržaj hidroksumetilfurfurala - HMF (spektrofotometrijska metoda - UV/VIS). Statistička obrada podataka provedena je programom SAS 9.4 (SAS, 2012). Opisni statistički podaci dobiveni su procedurom MEANS, dok je usporedba razlika srednjih vrijednosti ispitnih skupina provedena ANOVA procedurom prema modelu:  $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$ , gdje je  $Y_{ij}$  svojstvo,  $\mu$  = srednja vrijednost,  $\tau_i$  = fiksni utjecaj te  $\varepsilon_{ij}$  = neprotumačeni ostatak. Razlike između eksperimentalnih skupina utvrđene su primjenom Duncan post hoc testa. Za provjeru povezanosti između ispitivanih svojstava izračunat je Pearsonov koeficijent korelacije procedurom CORR.

## Rezultati i rasprava

Uspoređujući prosječne vrijednosti udjela peludnih zrnaca bagrema između lokacija (Tablica 1), razvidno je da je najveći udio (56,73 %) utvrđen na lokaciji Konjščina, zatim na lokaciji Lobor/Mače (55,40 %) te podjednak udio na preostalim lokacijama, Zabok (50 %) i Krapina 47,06%. Međutim, navedeni se parametar u istraživanim uzorcima meda nije statistički značajno razlikovao ( $F = 1,50$ ;  $p = 0,2260$ ). Najniže vrijednosti udjela peludi (24 %) bile su utvrđene u uzorcima meda s područja Konjščine i Krapine, a najviše (80 %) također u uzorcima s područja Konjščine te s područja Lobor/Mače (79 %). Približne vrijednosti udjela peludnih zrnaca bagrema potvrđuju i istraživanja koja su provedena na području Krapinsko-zagorske županije (tijekom tri godine), gdje su se srednje vrijednosti udjela peludnih zrnaca bagrema kretale od 44,1 do 51,8 % (Krušelj, 2012.). Osim ovog istraživanja i Uršulin-Trstenjak i sur. (2017a) su također za uzorke bagremova meda s područja Krapinsko-zagorske i Varaždinske županije utvrdili udio peludnih zrnaca bagrema od 22 do 68 % sa srednjom vrijednošću od 42,88 %. Usporedivši rezultate ovog istraživanja sa istraživanjem Persano Oddo i Piro (2004), koje je bilo provedeno na uzorcima iz četiriju država (Švicarska, Njemačka, Francuska i Italija), prosječni je udio peludi bagrema iznosio 28,1 % i sa znakovito velikim rasponom od samo 7 % do 59,5 %, iz čega je razvidna zaista visoka uniflornost uzoraka bagremova meda s područja Krapinsko-zagorske županije.

Tablica 1. Deskriptivna statistika udjela peludnih zrnaca bagrema (%) između lokacija

Lokacija	N	$\bar{x}$	Sd	Minimum	Maksimum
Konjščina	22	56,73	15,73	24	80
Krapina	18	47,06	13,65	24	69
Lobor/Mače	5	55,40	16,15	39	79
Zabok	6	50,00	14,64	34	69

Promatrajući fizikalno-kemijske parametre po godinama, utvrđeno je da se prosječni udio vode kretao od 15,94 % u uzorcima iz 2016. godine do 16,13 % za uzorke iz 2017. godine s rasponom od 14,40 do 18,20 % (Tablica 2). Međutim, udio se vode u ispitivanim uzorcima meda nije statistički značajno razlikovao ( $F = 0,49$ ;  $p = 0,4886$ ). Uspoređujući vrijednosti navedenog parametra s istraživanjima u drugim zemljama, svakako treba spomenuti istraživanje koje je provedeno na ukupno 715 uzoraka bagremovog meda iz 21 europske države, gdje je prosječni udio vode bio 17,1% s rasponom od 14,7 do 19,6 % (Persano Oddo i Piro 2004.). Također, u uzorcima bagremova meda s područja Češke, Pridal i Vorlova (2002) su utvrdili da je prosječni udio vode iznosio 16%, a raspon se kretao od 15,3 do 16,7 %, a Kandolf Borovšak (2011.) u uzorcima bagremova meda s područja Slovenije nije utvrdila statistički značajnu razliku po godinama (raspon se kretao od 15,4 do 15,8 %). U sljedećem parametru, električnoj provodnosti, utvrđena je statistički značajna razlika između godina ( $F = 9,48$ ;  $p = 0,0034$ ). Tako je u uzorcima meda iz 2016. godine utvrđena statistički

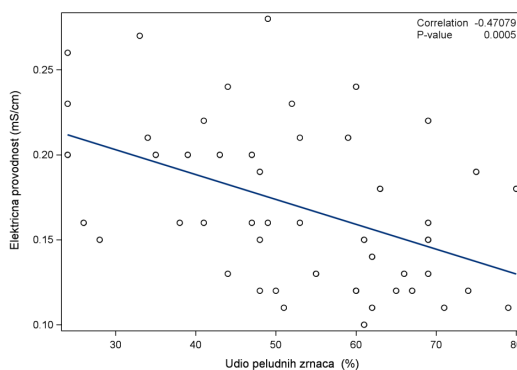
značajno niža (0,15 mS/cm) vrijednost električne provodnosti u odnosu na uzorke meda iz 2017. godine (0,19 mS/cm), a utvrđene su se vrijednosti kretale od 0,10 do 0,28 mS/cm kroz dvije godine (Tablica 2). Slične vrijednosti od 0,15 do 0,17 mS/cm bile su utvrđene u istraživanju Krušelja (2012.), koje je bilo provedeno na uzorcima bagremova meda s područja Krapinsko-zagorske županije. U istraživanju koje je bilo provedeno na 198 uzoraka bagremova meda s područja Hrvatske, utvrđena je prosječna vrijednost od 0,16 mS/cm s rasponom od 0,12 do 0,27 mS/cm (Svečnjak i sur., 2015.) te od 0,12 do 0,14 mS/cm u istraživanju Uršulin-Trstenjak i sur. (2017b.). Slične su rezultate dobili Bogdanov i sur. (2005.) te Persano Oddo i sur. (1995.) s prosjekom od 0,15 mS/cm. Međutim, u istraživanjima bagremova meda provedenima na području Slovenije utvrđene su više prosječne vrijednosti ovog parametra, te su se vrijednosti izmjerene u trogodišnjem razdoblju kretale od 0,20 do 0,25 mS/cm (Kandolf Borovšak, 2011.). Kao i u slučaju udjela vode, i kod pH vrijednosti nije utvrđena statistički značajna razlika ( $F=2,62$ ;  $p=0,1121$ ) u uzorcima meda između godina. Naime, u uzorcima iz 2017. godine utvrđena je nešto niža prosječna vrijednost od 3,98 u odnosu na onu u 2016. godini, u kojoj je iznosila 4,05 (Tablica 2). Slične prosječne vrijednosti od 3,90 i s rasponom od 3,61 do 4,27 utvrdili su i Svečnjak i sur. (2015.). Sadržaj HMF-a pokazatelj je svježine, pregrijavanja i uvjeta skladištenja meda. Uspoređujući sadržaj HMF-a između godina (Tablica 2) razvidno je da je u uzorcima iz 2016. godine utvrđen statistički značajno viši sadržaj HMF-a (4,98 mg/kg) ( $F=4,95$ ;  $p=0,0307$ ) u odnosu na uzorke meda iz 2017. godine (3,69 mg/kg), a utvrđene su se vrijednosti kretale od 0,60 do 9,70 mg/kg, što ukazuje da uzorci nisu bili izloženi temperaturnim tretmanima, već je to posljedica vremenskog razdoblja kada je proizveden med.

Tablica 2. Deskriptivna statistika za udio vode, električnu provodnost, pH vrijednost i sadržaj HMF-a u uzorcima bagremova meda s područja Krapinsko-zagorske županije po godinama

Parametar	Godina	N	$\bar{x}$	Sd	Minimum	Maksimum
Udio vode (%)	2016.	22	15,94 <sup>a</sup>	1,05	14,60	17,90
	2017.	29	16,13 <sup>a</sup>	0,90	14,40	18,20
Električna provodnost (mS/cm)	2016.	22	0,15 <sup>a</sup>	0,04	0,10	0,24
	2017.	29	0,19 <sup>b</sup>	0,04	0,11	0,28
pH vrijednost	2016.	22	4,05 <sup>a</sup>	0,16	3,72	4,30
	2017.	29	3,98 <sup>a</sup>	0,11	3,71	4,21
Sadržaj HMF-a (mg/kg)	2016.	22	4,98 <sup>a</sup>	2,13	0,60	9,70
	2017.	29	3,69 <sup>b</sup>	1,97	1,40	9,40

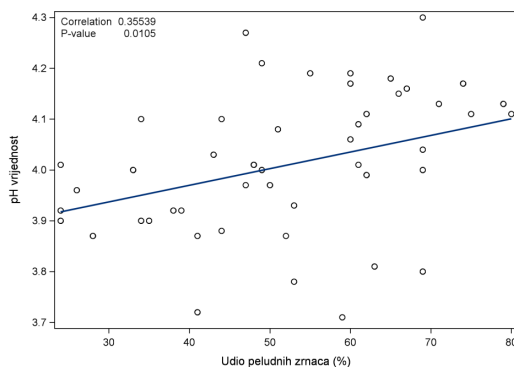
srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite ( $p < 0,05$ )

Na grafikonu 1 i 2 prikazane su korelacije između uniflornosti meda i električne provodnosti, odnosno pH vrijednosti. Istraživanjem je utvrđena statistički značajna srednje jaka negativna korelacija ( $r = -0,47$ ;  $p = 0,0005$ ) između električne provodnosti i uniflornosti istraživanih uzoraka bagremova meda (Grafikon 1). Ovaj rezultat ukazuje da smanjenjem udjela peludnih zrnaca bagrema u uzorcima meda (a što implicira i smanjenje uniflornosti), raste električna provodnost, i obrnuto.



Grafikon 1. Korelacija između električne provodnosti i udjela peludnih zrnaca u uzorcima bagremova s područja Krapinsko-zagorske županije

Na grafikonu 2 prikazani su rezultati analize povezanost uniflornosti meda s pH vrijednošću. Analizom je utvrđena statistički značajna srednje jaka pozitivna korelacija ( $r = 0,36$ ;  $p = 0,0105$ ) između istraživanih parametara, odnosno utvrđeno je da se s povećanjem udjela peludnih zrnaca bagrema povećava i pH vrijednost.



Grafikon 2. Korelacija između pH vrijednosti i udjela peludnih zrnaca u uzorcima bagremova s područja Krapinsko-zagorske županije

## Zaključci

Provedenim su istraživanjem utvrđene statistički značajne razlike u električnoj provodnosti između uzoraka bagremova meda iz 2016. i 2017, jer je u uzorcima iz 2017 u većem udjelu bio prisutan nektar od drugih biljnih vrsta, što se odrazilo na višu vrijednost navedenog parametra. Također, u uzorcima meda iz 2016. godine bilo je utvrđeno statistički značajno više HMF-a u odnosu na uzorke meda iz 2017. godine, što je posljedica vremenskog razdoblja kada je proizveden med. Analiza ostalih fizikalno-kemijskih parametara (udio vode i pH vrijednost) nije pokazala statistički značajne razlike ovisno o godini. U istraživanim se uzorcima meda udio peludnih zrnaca kretao od 24 do čak 80 %, čime se ističe visoka uniflornost bagremova meda s područja Krapinsko-zagorske županije. Rezultati istraživanja pokazali su srednje jaku pozitivnu korelaciju između uniflornosti bagremova meda i pH vrijednosti, dok je između uniflornosti i električne provodnosti utvrđena srednje jaka negativna korelacija. Navedene korelacije ukazuju da bi se električna provodnost i pH vrijednost mogle iskoristiti za utvrđivanje uniflornosti bagremova meda, kao polazište za daljnja istraživanja.



## Literatura

- Bogdanov S., Bieri K., Kilchenmann V., Gallmann P. (2005). Schweizer sortenhonige. *Agroscope, Liebefeld-Posieux*, 3-55.
- EU Council directive 2001/110EC (2002) Official Journal of the European Communities L10:47–52.
- International Honey Commission (2009). Harmonised methods of the International Honey Commission. <https://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>
- Kandolf Borovšak A. (2011). Pelodna sestava medu iz različnih fitogeografskih območij Slovenije. Magistrski rad. Univerza v Ljubljani Biotehniška fakulteta.
- Krušelj M. (2012). Utjecaj vremenskih i proizvodnih uvjeta na kakvoću bagremova meda s područja Krapinsko-zagorske županije. Doktorska disertacija. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
- Persano Oddo L., Piazza M. G., Sabatini A. G., Accorti M. (1995). Characterization of unifloral honeys. *Apidologie*. 26: 453-465.
- Persano Oddo L., Piro R. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*. 35: 38-81.
- Pridal A., Vorlova L. (2002). Honey and its physical parameters. *Czech Journal of Animal Science*. 47 (10): 439-444.
- Svečnjak L., Bubalo D., Baranović G., Novosel H. (2015). Optimization of FTIR-ATR spectroscopy for botanical authentication of unifloral honey types and melissopalynological data prediction. *European Food Research and Technology*. 240 (6): 1101-1115.
- SAS Inst. Inc. 2012. The SAS System for Windows. Version 9.4. Cary, NC. SAS Institute
- von Der Ohe W., Persano Odo L., Piana M. L., Morlot M., Martin P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*. 35: 18-25.
- Uršulin-Trstenjak N., Puntarić D., Levanić D., Gvozdić V., Pavlek Ž., Puntarić A., Puntarić, E., Puntarić I., Vidosavljević D., Lasić D., Vidosavljević M. (2017a). Pollen, Physicochemical, and Mineral Analysis of Croatian Acacia Honey Samples: Applicability for Identification of Botanical and Geographical Origin. *Journal of Food Quality*. (0146-9428) 1-11.
- Uršulin-Trstenjak N., Levanić D., Grabar I., Koldenjak M., Bošnjir J. (2017b). Physico-Chemical Profiles of Croatian Honey with an Overview of Its Consumption among Healthcare Students. *Journal of Applied Health Sciences*. 3 (1): 51-60.

## Botanical origin and physicochemical properties of black locust honey from Krapina – Zagorje County

The aim of this study was to determine the botanical origin and physico-chemical properties of black locust honey samples collected from different localities of Krapina-Zagorje County during two production seasons. Furthermore, this paper aimed to establish correlation between the uniflorality of honey and selected physico-chemical parameters (electrical conductivity and pH value). Levels of uniflorality (the share of black locust pollen grains) ranged from 24 - 80%. A statistically significant lower value of electrical conductivity was determined in honey samples from 2016 (0.15 mS / cm) compared to those from 2017 (0.19 mS / cm). In the honey samples collected during 2016, a statistically significant higher value of HMF was found (4.98 mg/kg) compared to 2017 (3.69 mg/kg). The results have revealed medium strong positive correlation between the uniflorality and pH value of black locust honey ( $r=0.36$ ), and a medium-strong negative correlation ( $r=-0.47$ ) between honey uniflorality and electrical conductivity.

**Keywords:** black locust honey, Krapina-Zagorje County, botanical origin, physico-chemical properties

## Optimization of the genomic DNA extraction methods and the alternative PCR technique for sex identification in captive birds

Polona Margeta<sup>1</sup>, Damir Jakšić<sup>2</sup>, Vladimir Margeta<sup>1</sup>, Ivica Bošković<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek, Croatia (bivica@fazos.hr)*

<sup>2</sup>*State Stud Farm Lipik, Baranjska 14a, p.p. 12, 34551 Lipik*

### Abstract

Since over 50% of captive birds are monomorphic, numerous research are focused to the development of efficient molecular methods for sex identification. The aim of present work was to determine the best method for genomic DNA extraction from blood and feather samples, as well as optimization of the alternative PCR sex identification technique in 6 bird species. When comparing blood and feathers as a source material for genomic DNA extraction, better and more consistent results were obtained with blood samples, but DNA extracted from feathers was nonetheless sufficient for alternative PCR for sex identification. Alternative PCR method for sex identification in birds was successfully optimized.

**Key-words:** captive birds, sex identification by PCR, DNA extraction from feathers, DNA extraction from blood-drops

### Introduction

Over 50% of captive birds are monomorphic (Griffiths et al., 1998) and their sexing based on phenotype and external morphology is impossible. Sex determination is difficult even in dimorphic birds while they are chicks (Kahn et al., 1998). In Croatia, there are numerous breeders of different bird species, whose breeding relies on accurate sex identification of individuals. Sex determination is not only important for bird breeding but also for trading and increasing interest for sex determination of their birds is observed even in individual owners (Vucicevic et al., 2013).

Several research deals with the development of efficient molecular methods for sex identification which support and assist breeding and conservation of many bird species (Cerit and Avanus, 2007). The individual sex in birds is mainly determined genetically implying genes on one of the two sex chromosomes. Contrary to mammals, in which male sex chromosomes are heterozygous (XY) and female are homozygous (XX), in bird females are heterozygous (ZW), while males are homozygous (ZZ). The W chromosome has lost most of the genes during the evolution and is, therefore, reduced in size, while the Z chromosome is highly conserved and larger which is the basis for cytogenetic sex determination. However, cytogenetic sex determination is labour intensive due to large number of chromosomes in birds (Griffiths and Phil, 2000).

There were some attempts to search sex-chromosomes specific micro- and minisatellites (Longmire et al., 1993, Miyaki et al., 1997). Not only are techniques for determination of such markers quite expensive and time-consuming, microsatellites determined in one species are often not present or differ in other species, which makes this method inapplicable to a broader range of bird species.

Two decades ago, a PCR-based technique for sex identification in captive birds was accomplished using size differences in introns of the chromodomain helicase DNA-binding

(CHD) gene between the Z and W chromosomes (Griffiths et al., 1998, Fridolfsson and Ellegren, 1999). Amplification of the *CHD* gene segment in male birds only produces one amplicon fragment of the Z chromosome, while in females it produces two fragments of the Z and W chromosomes that differ in size due to length differences between the amplified introns.

Different *CHD*-related primer sets have been designed by researchers (Griffiths et al., 1998, Fridolfsson and Ellegren, 1999, Kahn et al., 1998) to produce PCR fragments which differ in size between two sex chromosomes. In general, the difference in size between Z- and W-specific fragments amplified with the 2550F/2718R primers (Fridolfsson and Ellegren, 1999) ranges from 150 to 250 bp, while for the P2/P8 primers, from 10 to 80 bp (Jensen et al., 2003). The 2550F/2718R primers may in some species produce only one fragment both in males and females because of a preferential amplification of the shorter gene copy from the W chromosome (Fridolfsson and Ellegren, 1999). P2/P8 based assignment of sex is sometimes difficult because of short size-difference between W and Z amplified fragments and sometimes because of polymorphism in the Z chromosome (Dubiec et al., 2005).

The application of the restriction enzyme BshNI, which recognizes a cleavage site in the P2/P8 PCR-product of W chromosome, enables a reliable sex identification, based on three bands in females and one band in males (Väli and Elts, 2002).

To avoid problems of PCR-based methods with one primer set, Ito et al. (2003) introduces a method of sex identification by alternative PCR, referred to as amplification refractory mutation system (ARMS). This technique can amplify specific alleles by using 3'-terminal mismatch primer that pairs with only specific alleles.

Another great challenge in sex identification of captive birds is DNA isolation. The initial sample provided for DNA isolation is often rather scarce, limited to few blood-drops on filter paper or two to three feathers, which is practically in the range of forensic samples. Using feathers instead of blood as a genomic DNA source minimizes the stress in birds and simplifies the sampling. Moreover, juvenile birds and small parrots have small size of the blood vessels which makes blood extraction very difficult (Bello et al., 2001).

The aim of the research was to determine best method for genomic DNA extraction from 2-3 drops of blood on a filter-paper and from feathers, as well as optimization of the alternative PCR sex identification technique for sex identification in 6 bird species: *Ara ararauna*, *Alisterus scapularis*, *Gallicolumba luzonica*, *Musophaga violacea*, *Tauraco livingstonii* and *Turtur brehmeri*.

## Material and methods

Optimization of genomic DNA extraction method was performed for chicken blood-sample (blood taken from brachial vein or 3 drops of blood on filter paper) and for feathers (2 primary chicken feathers collected on wings).

### *DNA extraction from blood*

For DNA extraction from blood two methods were compared, modified phenol-chloroform extraction and extraction based on spin-columns (E.Z.N.A.<sup>®</sup> Tissue DNA Kit, Omega Bio-tek). In phenol-chloroform protocol, 100µl of blood was few times washed out with 800 µl of TE buffer (1M Tris-HCl, pH 8,0, 0,5M EDTA, pH 8,0), the pellet was digested in 300µl lysis buffer (1M Tris-HCl, pH 8,3, 2M MgCl<sub>2</sub>, 1M KCl, 0,5% Tween) with 4µl proteinase K (20mg/mL). Proteins were removed by phenol-chloroform precipitation (phenol:chloroform:isoamil alcohol 25:24:1, and chloroform: isoamil alcohol 24:1). Genomic DNA was ethanol-precipitated and dissolved in ultra-pure water.

Similar protocol was used for genomic DNA extraction from 3 drops of blood on filter paper, but without initial washing-out with TE buffer. Filter paper was chopped in small pieces and extraction proceeded with lysis buffer.

Genomic DNA extraction with E.Z.N.A.<sup>®</sup> Tissue DNA Kit was performed following manufacturer instructions - protocol for blood extraction for 200µl of blood from brachial vein and forensic blood protocol for 3 drops of blood on filter paper.

#### *DNA extraction from feathers*

For phenol-chloroform extraction and extraction with E.Z.N.A.<sup>®</sup> Tissue DNA Kit 0,3-0,5 cm of the feather basal part (calamus) was chopped in small pieces. In phenol-chloroform extraction, lysis buffer was added with 6µl proteinase K (20mg/mL) and extraction proceeded as described for blood. Extraction with E.Z.N.A.<sup>®</sup> Tissue DNA Kit was performed by following the manufacturers forensic protocol for feathers and nails.

#### *Optimization of the alternative PCR sex identification method*

A part of the *CHDI* gene was amplified as described by Ito et al. (2003) in 10 µl reactions containing 20-50ng of genomic DNA. Reaction optimization was performed by initial denaturation step at 95°C for 15 min, followed by 35 cycles at 46–55°C for 40 s, 72°C for 40 s, and 95°C for 40 s. Program ended with final elongation step 72°C for 6 min. PCR products were checked on 3,5% agarose gel.

## Results and discussion

### DNA extraction from blood

Genomic DNA was successfully extracted both from whole blood and from 3 drops of blood on filter paper using phenol-chloroform modified method. Extraction based on spin-columns was successful only for blood drops on filter paper, while DNA extraction from whole blood resulted in clogging of the column. This may be due to the fact that blood protocol provided by producer of spin-column DNA extraction kit is based on human samples (E.Z.N.A.<sup>®</sup>Tissue DNA Kit Product Manual). Contrary to humans and other mammals, erythrocytes in bird are cells with nucleus (Stier et al., 2013), meaning that in the same volume of blood there is a larger number of nucleated cells in bird comparing to mammals. To avoid clogging of the column, bird blood should probably be diluted before extraction.

### DNA extraction from feathers

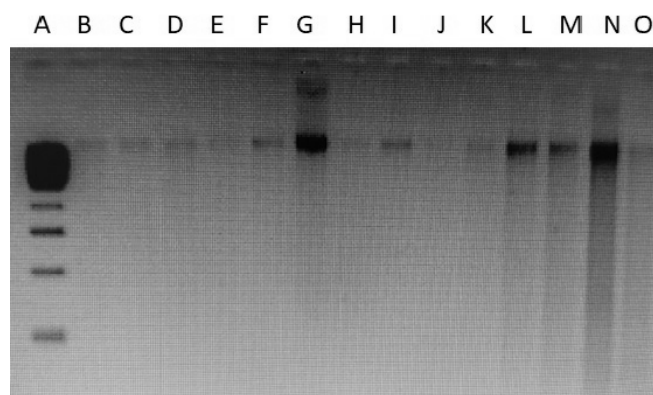


Figure 1. Genomic DNA extracted from feathers with E.Z.N.A.<sup>®</sup> Tissue DNA Kit. A - 1kb ladder (*Thermo fisher*), B - O: 6µl of extracted genomic DNA (50 µl elution); B, C, G, H, I - *Ara ararauna*; D, E, F - *Alisterus scapularis*; J - *Musophaga violacea*; K - *Tauraco livingstonii*; L, M, N, O - *Gallicolumba luzonica*. Genomic DNA was successfully extracted from all samples.

Genomic DNA extraction from the basal part of feathers was more successful with E.Z.N.A.<sup>®</sup> Tissue DNA Kit (Figure 1) compared to phenol-chloroform extraction. The major problem in phenol-chloroform extraction is co-precipitation of RNA, which was not completely degraded even when applying RNase after lysis step. Similarly, Bello et al. (2001) obtained co-precipitation of RNA in phenol-chloroform genomic DNA extraction from feathers and they concluded that further RNase digestion step (0.1 mg/ml RNase, 2–3 hours at 37 C) is required to remove RNA, which quite prolongs the DNA extraction procedure.

When comparing blood and feathers as a source material for genomic DNA extraction, better and more consistent results were obtained with blood samples which is in line with observing of Harvey et al. (2006). DNA extracted from feathers was nonetheless sufficient for alternative PCR for sex identification. Harvey's opinion on whether to sample blood or feathers is that the decision should involve trade-offs weighing between these methods. Feather sampling provides lower DNA yields, but is faster and easier than blood sampling, and the reduced handling time may reduce stress on the birds during sampling. Feather sampling is easier and more convenient for bird breeders, while blood sampling requires more skills and practice.

#### *Optimization of the alternative PCR sex identification method*

Optimization of an alternative PCR protocol for sex identification in six different species of birds by setting the annealing temperature between 46°C and 55°C in a gradient thermal cycler revealed best results in a temperature range between 48°C and 54°C (Figure 2). In a final protocol, annealing temperature was set to 50°C. Other authors (Ito et al., 2003, Nugraheni et al., 2019, Purwaningrum et al., 2019) used annealing temperature of 46°C.

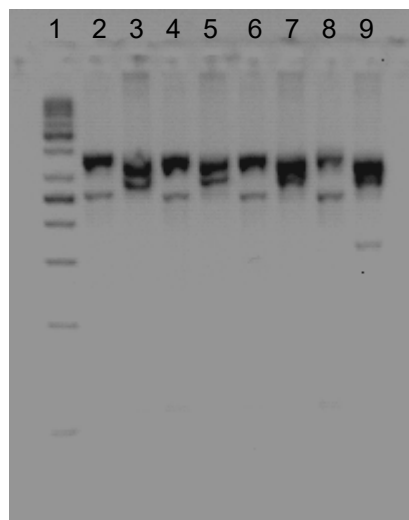


Figure 2: Optimization of an alternative PCR protocol for sex identification. PCR products in the annealing temperature range in which reaction was successful is shown. 1 - 50bp ladder (*Thermo fisher*), lanes 2, 4, 6, 8 - male samples of *Ara ararauna*; 3, 5, 7, 9 - female samples of *Ara ararauna*. Annealing temperature: 2, 3 - 49,9°C; 4, 5 - 52,4°C; 6, 7 - 54,0°C; 8, 9 - 55°C.

#### **Conclusions**

Comparison of different methods for genomic DNA extraction from bird blood or feather samples revealed that best results regarding quality and quantity of extracted DNA were observed for phenol-chloroform extraction from whole blood. Nevertheless, method of sampling should always be taken into consideration.

Alternative PCR method for sex identification in birds was successfully optimized for six different bird species.

## References

- Bello N., Francino O., Sánchez A. (2001). Isolation of genomic DNA from feathers. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 13(2): 162–164.
- Cerit H., and Avanus K. (2007). Sex identification in avian species using DNA typing methods. *World Poultry Sci J* 63: 91–99.
- Dubiec A., and Neubauer M. Z. (2006). Molecular techniques for sex identification in birds. *Biological Lett.* 43 (1): 3-12.
- Fridolfsson A. K., Ellegren H. (1999). A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *J. Avian Biol.* 20: 116-121.
- Griffiths R., Double M.C., Orr K., Dawson R.J. (1998). A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology.* 7(8): 1071-1075.
- Griffiths R., Phil D. (2000). Sex identification in birds. *Semin Avian Exot Pet.* 9: 14–26.
- Harvey, M.G., Bonter, D.N., Stenzler, L.M. and Lovette, I.J. (2006). A comparison of plucked feathers versus blood samples as DNA sources for molecular sexing. *Journal of Field Ornithology*, 77: 136-140.
- Ito H., Sudo-Yamaji A., Abe M., Murase T., Tsubota T. (2003). Sex identification by alternative polymerase chain reaction methods in falconiformes. *Zoolog Sci.* 20(3): 339-44.
- Kahn N.W., St. John J., Quinn T.W. (1998). Chromosome-specific intron size differences in the avian CHD gene provide an efficient method for sex identification in birds. *Auk*, 115(4): 1074-1078.
- Longmire J.L., Maltbie M., Pavelka R.W., Smith L.M., Witte S.M., Ryder O.A., Ellsworth D.L., Baker R.J. (1993). Gender Identification in Birds using Microsatellite DNA Fingerprint Analysis. *The Auk*, 110, (2): 378-381.
- Miyaki C. Y., Duarte J. M. B., Caparroz R., Nunes A. L. V., Wajntal A. (1997). Sex identification of South American parrots (Psittacidae, Aves) using the human minisatellite probe 33.15. *Auk* 114: 516-520.
- Purwaningrum M., Nugroho H.A., Asvan M., Karyanti K., Alviyanto B., Kusuma R., Haryanto A. (2019). Molecular techniques for sex identification of captive birds. *Vet World.* 12(9): 1506-1513.
- Stier A., Bize P., Schull Q., Zoll J., Singh F., Geny B., Gros F., Royer C., Massemin S., Criscuolo F. (2013). Avian erythrocytes have functional mitochondria, opening novel perspectives for birds as animal models in the study of ageing. *Frontiers in zoology.* 10(1), 33.
- Väli Ü., Elts J. (2002). Molecular sexing of Eurasian Woodcock *Scolopax rusticola*. *Wader Study Group Bull.* 98: 48.
- Vucicevic M., Stevanov-Pavlovic M., Stevanovic J., Bosnjak J., Gajic B., Aleksic N., Stanimirovic Z. (2013). Sex determination in 58 bird species and evaluation of CHD gene as a universal molecular marker in bird sexing. *Zoo Biol.* 32(3): 269-76.

## Hlapljivi spojevi meda s dodatkom koncentriranog voćnog soka od maline

Zvonimir Marijanović<sup>1</sup>, Dominik Siroglavić<sup>1</sup>, Mladenka Šarolić<sup>2</sup>, Tomislav Svalina<sup>2</sup>, Tomislav Pavlešić<sup>3</sup>, Ivana Gobin<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Kemijско-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu, Ruđera Boškovića 35, 21000 Split, Hrvatska (zmarijanovic@ktf-split.hr)*

<sup>2</sup>*Velučilište "Marko Marulić" u Kninu, Petra Krešimira IV. 30, 23000 Knin, Hrvatska*

<sup>3</sup>*Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci, Viktora Cara Emina 5, 51000 Rijeka, Hrvatska*

<sup>4</sup>*Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Braće Branchetta 20/1, 51000 Rijeka, Hrvatska*

### Sažetak

Mnoštvo bioloških spojeva u medu nisu stabilni, naročito hlapljive tvari, a njihove se strukture mogu transformirati tijekom zrenja meda, skladištenja te u procesu dobivanja proizvoda od meda uslijed djelovanja visoke temperature. Cilj ovog rada je bio identificirati hlapljive i poluhlapljive spojeve unutar proizvoda od meda. Spojevi su izolirani ultrazvučnom ekstrakcijom (USE) koristeći otapala pentan : dietil-eter (1:2, v/v) i diklormetan. Druga korištena metoda je mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (SPME). Izolirani spojevi su analizirani vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS). Najzastupljeniji spojevi unutar uzorka su bili: 5-hidroksimetilfurfural (21,9-43,9 %), 2-furankarboksialdehid (furfural; 16,3 %), mnogi terpeni i derivati benzena. Specifičan spoj izoliran ultrazvučnom ekstrakcijom koristeći diklormetan kao otapalo je tzv. malina keton (4-(4-hidroksifenil)-butan-2-on (0,9 %)).

**Ključne riječi:** hlapljivi spojevi, med, sok od maline, GC-MS, USE, SPME

### Uvod

Med je od davnina vrlo vrijedan prehrambeni proizvod, koji sadrži glukozu, fruktozu te saharozu, maltozu i druge polisaharide (uključujući i dekstrine), različite bjelančevine, aminokiseline, mineralne tvari, enzime, vitamine, organske kiseline, peludna zrnca, hlapljive tvari i dr. Zbog svog kemijskog sastava, med je visoko energetska hrana za odrasle i djecu (Bogdanov i sur., 2008.). Med se najčešće konzumira u neprerađenom stanju, a zbog svoje slatkoće često se koristi kao zamjena za šećer te se dodaje kao sastojak ili kao prirodni aditiv kod proizvodnje različitih prehrambenih proizvoda (Marijanović, 2014.). Posebne odlike prehrambenih proizvoda proizlaze iz vrijednosti njihovih sastojaka, načina proizvodnje te podneblja iz kojeg dolaze. U novije vrijeme se na svjetskom tržištu sve više javlja potreba za visoko vrijednim namirnicama prirodnog podrijetla, kao i za zaštitom prehrambenog proizvoda. Hrvatska je veoma bogata medonosnim biljnim vrstama što pruža velike mogućnosti razvoja pčelarstva, a osim primarne proizvodnje i drugih pčelinjih proizvoda vrlo je zanimljivo i proizvodnja mednih proizvoda među kojima treba istaknuti tradicionalne hrvatske proizvode kao što su paprenjaci, medenjaci, medovina (gvirc), medica (medni liker) i dr. U posljednje vrijeme se na tržištu može naći i „aromatizirani“ med, medni proizvod dobiven dodatkom različitih aroma, svježeg ili sušenog voća te orašastog voća u med. Iako je takav proizvod barem izgledom, sličan neprerađenom medu mora biti označen u skladu sa zakonskom regulativom (med s dodacima) kako kod potrošača ne bi izazvalo nedoumice (Kasum, 2011.).

## Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na jednom uzorku meda s dodatkom koncentriranog voćnog soka od maline. Med s dodatkom korišten u ovom radu u sebi sadrži 93 % bagremovog meda i 7 % koncentriranog soka od maline. Prosječna hranjiva vrijednost u 100 g ovog proizvoda je: energetska vrijednost–1252 kJ / 299 kcal, masti–0,0 g; od toga zasićene masne kiseline 0,0 g; ukupni ugljikohidrati–79,8 g; od toga šećeri 79,5 g; vlakna–0,3 g; bjelančevine–0,5 g i sol–0,0 g. Med s dodatkom je tamno crvene boje, miris mu je karakterističan s voćnom nijansom ploda maline i blago kiselog okusa po malini. Izolacija hlapljivih spojeva ultrazvučnom ekstrakcijom (USE) se izvodila uz pomoć ultrazvučne kupelji (Transsonic Typ 310/H, Njemačka) uz djelovanje indirektna sonifikacije pri frekvenciji 35 kHz i temperaturi  $25 \pm 3$  °C, uz korištenje dva različita organska otapala pentan (Kemika, Zagreb, Hrvatska) : dietil eterom (Kemika, Zagreb, Hrvatska)=(1:2, v/v) te diklormetanom (Kemika, Zagreb, Hrvatska) (Alissandrakis i sur., 2003.). Vršne pare su izolirane pomoću mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi (SPME) koristeći vlakno prekriveno sa divinilbenzenom/karboksenom/polidimetilsiloksanom (DVB/CAR/PDMS) prevlakom (Supelco Co., Bellefonte, PA, SAD) (Kuš i sur., 2018.), te upotrebom magnetske miješalice (Heidolph MR Her-Standard (100-1400 o/min) s termostatom Heidolph EKT 3001, Njemačka) (Marijanović, 2014.). Analiza izoliranih hlapljivih spojeva provedena je spregnutom tehnikom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS) (Agilent Technologies, Palo alto, Ca, SAD), koristeći plinski kromatograf model 7890A, u kombinaciji s masenim detektorom, model 5977E. Separacija komponenti provedena je na kapilarnoj koloni HP-5MS ((5% fenil)-metilpolisiloksan; 30 m × 0,25 mm; debljina sloja stacionarne faze 0,25 μm (Agilent J&W, SAD). Uvjeti rada plinskog kromatografa za HP-5MS kolonu su bili isti kao i u istraživanju Jerković i sur. (2016.). Identifikacija spojeva temeljila se na usporedbi njihovih indeksa zadržavanja (RI), određenih relativno prema retenciji vremena *n*-alkana (C<sub>9</sub>-C<sub>25</sub>), s onim zabilježenim u literaturi (El-Sayed, 2012.) i onima iz *Wiley 9* i *NIST 14* spektralne baze podataka mase (Jerković i sur., 2016.).

## Rezultati i rasprava

Izolacija hlapljivih i poluhlapljivih spojeva iz uzorka provedena je ultrazvučnom ekstrakcijom s dva otapala različite polarnosti (pentan : dietil-eter = (1:2, v/v) i diklormetan). Ekstrakcija pentan : dietil-eterom (1:2, v/v) – analizom je identificirano ukupno 33 spoja od kojih je najzastupljeniji 5-hidroksimetilfurfural (21,9 %) (Tablica 1.) čija prisutnost ukazuje na korištenje toplinskog tretmana prilikom proizvodnje ili uslijed neadekvatnog skladištenja uzorka (Jerković i sur. 2011.). Od karboksilnih kiselina i estera identificirani su derivati šikiminske kiseline (Escriche i sur., 2009.) kao što je metil-3,5-dimetoksi-4-hidroksibenzoat (metil-siringat; 6,4 %) (Jerković i sur., 2009.), benzojeva kiselina (8,6 %) i dr. (Steeg i Montang., 1988.). Ovi spojevi uglavnom potječu iz nektara i pronalazimo ih i u drugim vrstama meda. Kao glavni predstavnik derivata benzene identificiran je 4-vinilfenol (9,2 %) uz ostale derivate: 4-vinil-2-metoksifenol (7,2 %), 4-vinilsiringol (6,5 %). Od ostalih spojeva identificirani su: heksadekanska kiselina (palmitinska kiselina; 3,1 %) i 4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzaldehid (siringil-aldehid; 1,8 %). Ekstrakcija diklormetanom – analizom je identificirano ukupno 27 spojeva od kojih je najzastupljeniji 5-hidroksimetilfurfural (HMF) (43,9 %) (Tablica 1) (Escriche i sur. 2009.) koji je karakterističan spoj za svaku vrstu meda i njegov udio raste starenjem i zagrijavanjem meda. Od ostalih derivata furana najzastupljeniji je metil-2-furoat (5,1 %). Osim derivata furana, veliki udio imaju metil-3,5-dimetoksi-4-hidroksibenzoat (metil-siringat; 4,9 %) koji je prema Jerković i sur. (2009.) također identificiran u amorfnom medu (bagremac) (*Amorpha fructicosa* L.), te oktadekan (5,9 %). Predstavnik derivata benzene je 4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzaldehid



(siringil-aldehid; 1,8 %). Glavni predstavnik viših masnih kiselina je heksadekanska kiselina (palmitinska kiselina; 3,6 %). Od ostalih spojeva najznačajniji su: 3-(4-hidroksifenil)prop-2-enska kiselina (4-hidroksicimetna kiselina; 3,7 %) i dr. Specifični spoj koji je pronađen korištenjem diklormetana kao organskog otapala je 4-(4-hidroksifenil)-butan-2-on (0,9 %). To je tzv. malina keton koji nam ukazuje na prisutnost ploda maline unutar ovog meda. Malina keton se pojavljuje u različitim plodovima, a najviše ga ima u bobičastom voću. Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (SPME) je provedena na temperaturi koja ne prelazi 60°C omogućavajući izolaciju hlapljivih i poluhlapljivih spojeva bez stvaranja termičkih artefakata što je bitno za dobivanje pouzdanih rezultata. Izolirano je ukupno 18 spojeva, a kao najzastupljeniji spoj identificiran je 2-furankarboksialdehid (furfural; 16,3%) (Tablica 1). Derivati benzene su najzastupljenije komponente vršnih para osobito 3,4,5-trimetilfenol (12,2 %), benzaldehid (7,0 %), 2-feniletanol (3,3 %) i dr. Terpeni su druga grupa spojeva sa najvećim udjelom, osobito *trans*-linalol oksid (13,9 %). Iako ovom metodom uzorak nije termički tretiran, izoliran je poznati termički artefakt hotrienol (4,8 %). Identificirani hotrienol nastaje utjecajem topline no obzirom da tehnika SPME ne koristi termičku obradu, pretpostavlja se da je hotrienol nastao tijekom proizvodnje meda s dodatkom ili tijekom zrenja meda (Alissandrakis i sur., 2007.). Izoliran je i aldehid jorgovana (7,6 %), a biogenetska istraživanja su pokazala da aldehidi jorgovana nastaju iz linalola, preko (*E*)-8-hidroksilinaloola koji se pretvara u alkohol jorgovana koji dalje oksidira u aldehid jorgovana (Kreck i sur., 2003.). Identificiran je i dimetil-sulfid (9,3 %) čija prisutnost vjerojatno ukazuje da su u procesu proizvodnje korišteni sumporni derivati u svrhu konzerviranja koncentriranog voćnog soka od maline.

Tablica 1. Kemijski sastav i udio najzastupljenijih hlapljivih i poluhlapljivih spojeva meda s dodatkom koncentriranog soka od maline

Red. br.	Spoj	RI	Površina pika (%)		
			A	B	C
1.	2-furankarboksialdehid (furfural)	<900	--	--	16,3
2.	benzaldehid	965	--	--	7,0
3.	<i>trans</i> -linalol oksid	1076	tr.	tr.	13,9
4.	metil-2-furoat*	1084	1,4	5,1	--
5.	hotrienol	1106	--	--	4,8
6.	2-feniletanol	1116	1,2	0,9	3,3
7.	aldehid jorgovana	1154	--	--	7,6
8.	benzojeva kiselina	1162	8,6	1,0	--
9.	4-vinilfenol**	1221	9,2	--	--
10.	5-hidroksimetilfurfural (HMF)	1230	21,9	43,9	--
11.	4-vinil-2-metoksifenol	1314	7,2	2,2	--
12.	3,4,5-trimetilfenol	1336	--	--	12,2
13.	4-vinilsiringol**	1573	6,5	1,5	--
14.	4-(4hidroksifenil)buta-2-on (malina keton)	1645	--	0,9	--
15.	4-hidroksi-3,5-dimetoksi benzaldehid (siringil-aldehid)	1661	1,8	1,8	--
16.	metil-3,5-dimetoksi-4-hidroksibenzoat (metil-siringat) <sup>a</sup>	1774	6,4	4,9	--
17.	3-(4hidroksifenil)-prop-2-enska kiselina (4-hidroksicimetna kiselina)	1789	--	3,7	--

18. 4-hidroksi-3,5,6-trimetil-4-(3-okso-1-butenil)cikloheks-2-en-1-on**	1790	3,5	--	--
19. Oktadekan	1800	--	5,9	--
20. heksadekanska kiselina (palmitinska kiselina)	1963	3,1	3,6	--

RI = retencijski indeks na HP-5MS koloni; <sup>a</sup> = identifikacija potvrđena pomoću referentnog spoja; \* = točan izomer nije identificiran; \*\* = spoj uvjetno identificiran (samo analizom spektra masa); -- = nije identificirano; tr. = u tragovima; **A** = izolirano pomoću USE metode koristeći otapalo pentan : dietil-eter (1:2, v/v); **B** = izolirano pomoću USE metode koristeći otapalo diklormetan; **C** = izolirano pomoću SPME metode koristeći vlakno s DVB/CAR/PDMS ovojnicom

## Zaključak

GC-MS analizom identificiran je kemijskog sastav hlapljivih i poluhlapljivih spojeva u medu s dodatkom koncentriranog voćnog soka od maline. Keton maline se može smatrati ključnim hlapljivim spojem kojim se može odrediti dodatak maline u ovom medu. Pregledom rezultata dobivenih ovim metodama izolacije vjerojatno se unutar uzorka osim bagremovog meda nalazi i amorfin med (bagremac) (*Amorpha fruticosa* L.), što ukazuje na veliku prisutnost metil-siringata.

## Napomena

Istraživanja neophodna za ovaj rad dio su projekta „Istraživanje raritetnih unifloernih medova Hrvatske“ kojeg financira Agencija za plaćanje u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju, Republika Hrvatska.

## Literatura

- Alissandrakis E., Dafera D., Tarantilis P.A., Polissiou M., Harizanis P.C. (2003). Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey, *Food Chemistry* 82: 575-582.
- Alissandrakis E., Tarantilis P.A., Harizanis P.C., Polissiou M. (2007). Aroma investigation of Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic-mass spectrometric analysis, *Food Chemistry* 100: 396-404.
- Bogdanov S., Jurendić T., Sieber R., Gallmann P. (2008). Honey for Nutrition and Health: A Review, *J. Am. Coll. Nutr.* 27 (6): 677-689.
- El-Sayed A.M. (2012). The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals. Raspoloživo: <http://www.pherobase.com/>
- Escriche I., Visquert M., Juan-Borrás M., Fito P. (2009) Influence of simulated industrial thermal treatments on the volatile fractions of different varieties of honey, *Food Chemistry* 112: 329-338.
- Jerković I., Kranjac M., Marijanović Z., Zekić M., A., Tuberoso C. I. G. (2016). Screening of *Satureja subspicata* Vis. Honey by HPLC-DAD, GC-FID/MS and UV/VIS: Prephenate Derivatives as Biomarkers, *Molecules* 21 (3): 377-388.
- Jerković I., Kasum A., Marijanović Z., Tuberoso, C. I. G. (2011). Contribution to the characterization of honey-based Sardinian product *abbamele*: volatile aroma composition, honey marker compounds and antioxidant activity, *Food chemistry* 124: 401-410.
- Jerković I., Marijanović Z., Kezić J., Gugić M. (2009). Headspace, Volatile and Semi-Volatile Organic Compounds Diversity and Radical Scavenging Activity of Ultrasonic Solvent Extracts from *Amorpha fruticosa* Honey Samples, *Molecules* 14 (8): 2717-2728.
- Kasum A. (2011). Karakterizacija mednog proizvoda „*Abbamele*“ i sastav isparljivih spojeva tipičnih unifloernih medova Sardinije, Doktorska dizertacija, Prehrambeno-biotehnoški fakultet u Zagrebu, Zagreb.

- Kreck M., Püschel S., Wüst M., Mosandl A. (2003). Biogenetic studies in *Syringa vulgaris* L.: Synthesis and bioconversion of deuterium-labeled precursors into lilac aldehydes and lilac alcohols. *J. Agric. Food Chem.* 51: 463-469.
- Kuš P.M., Jerkovic I., Marijanović Z., Kranjac M., Tuberoso C.I.G. (2018). Unlocking *Phacelia tanacetifolia* Benth. Honey characterization through melissopalynological analysis, color determination and volatiles chemical profiling, *Food Research International* 106 (1): 243-253.
- Marijanović Z. (2014). Primjena ultrazvučne ekstrakcije otapalom i mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi za karakterizaciju meda, Doktorska disertacija. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek.
- Stegg E. and Montag A. (1988). Minor components of honey with organoleptic significance. Part I. Aromatic carboxylic acids and their esters, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 84: 103-108.

## **Volatile compounds of honey with the addition of concentrated raspberry fruit juice**

### **Abstract**

Many compounds of biological origin in honey are not stable, particularly volatile substances, and their structures can be transformed during honey maturation, storage and in the process obtaining honey products due to the action of high temperature. The aim of this paper was to identify volatile and semi-volatile compounds inside honey product. The compounds were isolated by ultrasound assisted solvent extraction (USE) using pentane : diethyl-ether (1:2 v/v) and dichloromethane as solvent. The second method is solid-phase microextraction (SPME). The isolated compounds were analyzed by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS). Most common volatile compounds were: 5-hydroxymethylfurfural (21.9-43.9%), 2-furancarboxyaldehyde (furfural:16.3%), many terpens and benzene derivatives. Specific volatile compound isolated with dichloromethane as solvent was „raspberry ketone“ (4-(4-hydroxyphenyl)butan-2-one (0.9%)).

**Key words:** volatiles compounds, honey, raspberry juice, GC-MS, USE, SPME

## Kvaliteta meda u ugostiteljskim objektima Požeško-slavonske županije

Anita Mindum<sup>1</sup>, Ivana Flanjak<sup>2</sup>, Valentina Obradović<sup>3</sup>, Ana Mrgan<sup>3</sup>, Helena Marčetić<sup>3</sup>, Ariana Penava<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zavod za javno zdravstvo Požeško-slavonske županije, Županijska 9, Požega, Hrvatska  
(penavaariana@gmail.com)

<sup>2</sup>Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Franje Kuhača 18, Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Veleučilište u Požegi, Vukovarska 17, Požega, Hrvatska

### Sažetak

Cilj rada bio je utvrditi kvalitetu meda u ugostiteljskim objektima. Prikupljeno je petnaest uzoraka meda u petnaest ugostiteljskih objekata i utvrđeno je da se pojavljuju četiri proizvođača različitih šarži. Utvrđeno je da unutar pojedinih šarži ima odstupanja u parametrima kvalitete. Dva uzorka nisu udovoljila uvjetima propisanim u Pravilniku o medu (NN 53/2015, 47/2017) s obzirom na izrazito visoku koncentraciju hidoksimetilfurfurala (HMF-a) od 349,69 mg/kg (uzorak 4-1) i granične vrijednosti od 43,26 mg/kg (uzorak 2-1). Na temelju meliosopalinološke analize utvrđeno je da uzorak 4-1 nema peludnih zrnaca što ukazuje na patvorenost ili se radi o filtriranom medu, dok su ostali uzorci razvrstani u cvjetni med, kako su i deklarirani.

**Ključne riječi:** ugostiteljski objekti, med, kvaliteta, Požeško-slavonska županija

### Uvod

Med kao visokovrijedna namirnica distribuirana se kako u vrtiće, škole, tako i ugostiteljske objekte iz raznih punionica s različitim geografskim podrijetlom i različitom kvalitetom. Potrošači postaju svjesniji konzumacije meda - hrane sa svojstvima korisnim za zdravlje (Uršulin-Trstenjak i sur., 2017.). Med je slatka tvar koju proizvode pčele od nektara ili medene rose (NN 53/2015).

Glavni sastojak meda su ugljikohidrati i njihov udjel iznosi 73-83 %, što med čini pezasićenom otopinom šećera.

Glavni šećeri koji medu daju slatkoću su fruktoza i glukoza. Med je u prosjeku 1,5 puta slađi od konzumnog šećera. Jedna od karakteristika po kojoj se med razlikuje od ostalih zaslađivača je i prisustvo vitamina, enzima, organskih kiselina te polifenola i to ga svakako čini boljim izborom od konzumnog šećera. Kemijski sastav meda je varijabilan te praktički ne postoje dva uzorka meda koja su u potpunosti identična (Vahčić i Matković, 2009.). Stoga se zbog navedenih sastavnica koristi kao lako probavljiva prehrabena namirnica za ljude (Bagde i sur., 2013.). Ujedno, za kvalitetu meda su odgovorne njegove fizikalno-kemijska svojstva, kao što su udio vode, električna vodljivost, sadržaj hidoksimetilfurfurala i enzimska aktivnost (Šarić i sur., 2008.).

Ovisno o udjelu vode, zatim medosnosnim biljkama od kojih je med nastao te udjelu pojedinih vrsta šećera variraju fizikalno-kemijska svojstva meda. Također, fizikalno-kemijska i svojstva meda ovise i o manipulaciji s proizvodom, kao što su uvjeti i vrijeme skladištenja, stoga je cilj ovog rada bio na osnovu odabranih fizikalno-kemijskih parametara

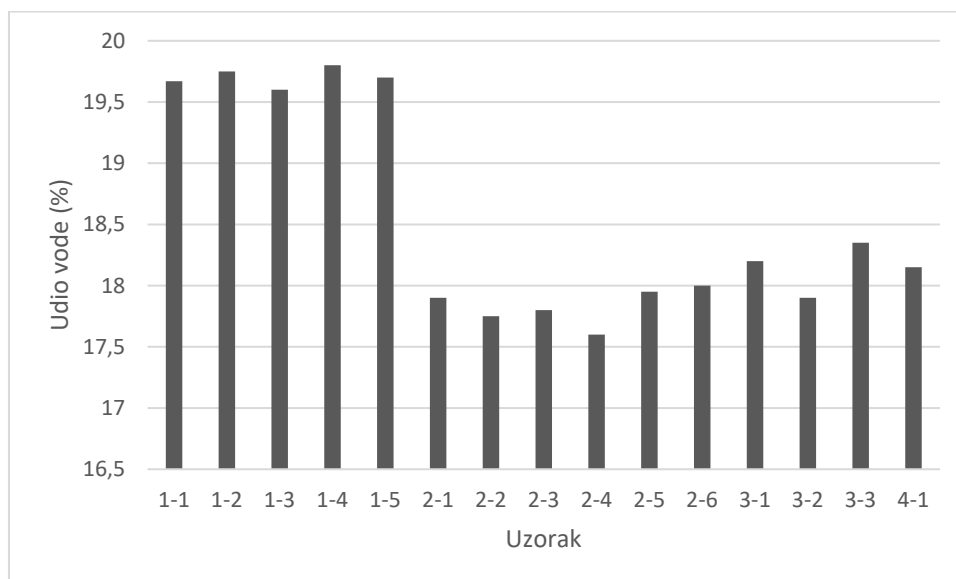
i botaničkog podrijetla utvrditi kvalitetu meda u ugostiteljskim objektima Požeško-slavonske županije.

### Materijal i metode

Uzorkovanje je izvršeno u petnaest ugostiteljskih objekata s područja Požeško-slavonske županije. Uzorke meda na tržište su stavili 4 proizvođača. Proizvođač broj 1 s uzorcima obilježenim od 1-1 do 1-5, drugi proizvođač s proizvodom dva s dvije šarže uzoraka od 2-1 do 2-6, proizvođač 3 s obilježenim uzorcima od 3-1 do 3-3 i jedan proizvođač čiji je proizvod zatečen u samo jednom ugostiteljskom objektu označen s brojem 4-1. Od fizikalno-kemijskih parametara kvalitete propisanih Pravilnikom o medu (NN 53/2015, NN 47/2017) provedeno je utvrđivanje električne vodljivosti, udjela vode, sadržaja hidroksimetilfurfurala, a provedena je i melisopalinološka analiza, kako bi se provjerilo botničko podrijetlo u skladu sa zahtjevima Pravilnika o kakvoći uniflornog meda (NN 122/2009, NN 11/2013). Fizikalno-kemijske analize provedene su po IHC metodama (IHC, 2009). Električna vodljivost je izmjerena na konduktometru Hach Lange HQ 430d flexi, udio vode na refraktometru Anton Paar Abbemat 3100. Sadržaj HMF-a izvršen je na spektrofotometru HACH LANGE DR 6000. Botničko podrijetlo uzoraka meda provedena je melisopalinološkom analizom prema DIN 10760:2002-05 normi na mikroskopu Olympus BX4.

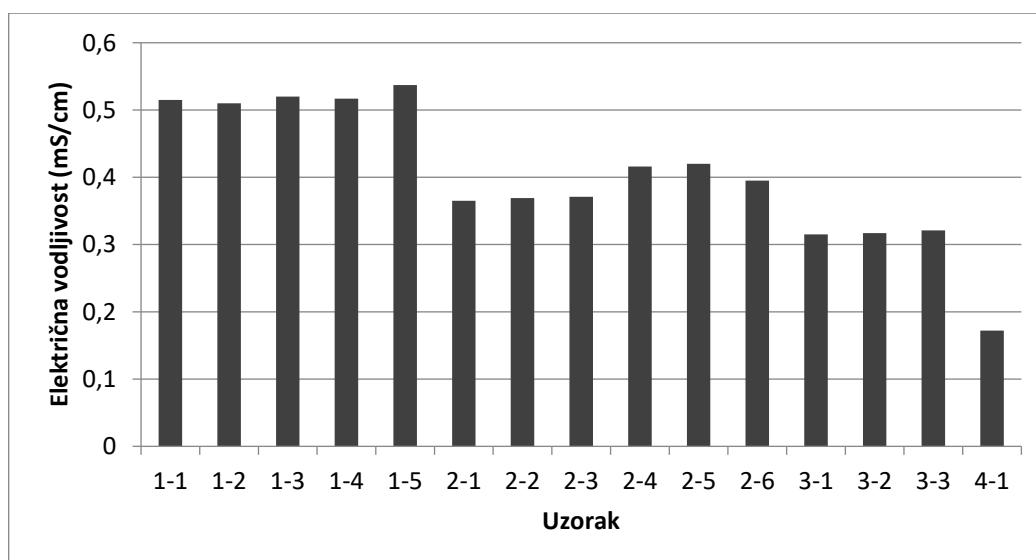
### Rezultati i rasprava

Tijekom istraživanja su bili prikupljeni uzorci meda po jedan iz svakog nasumce odabranog ugostiteljskog objekta. Uzorak dva od istoga proizvođača pojavio se u dvije šarže. Uspoređujući udio vode utvrđene su se vrijednosti kretale od 17,65 % do 19,67 % (Grafikon 1), a prema Pravilniku o medu maksimalno dozvoljena količina (MDK) udjela vode iznosi najviše 20 % iz čega je razvidno da su svi uzorci po navedenom parametru zadovoljili propisane MDK vrijednosti.



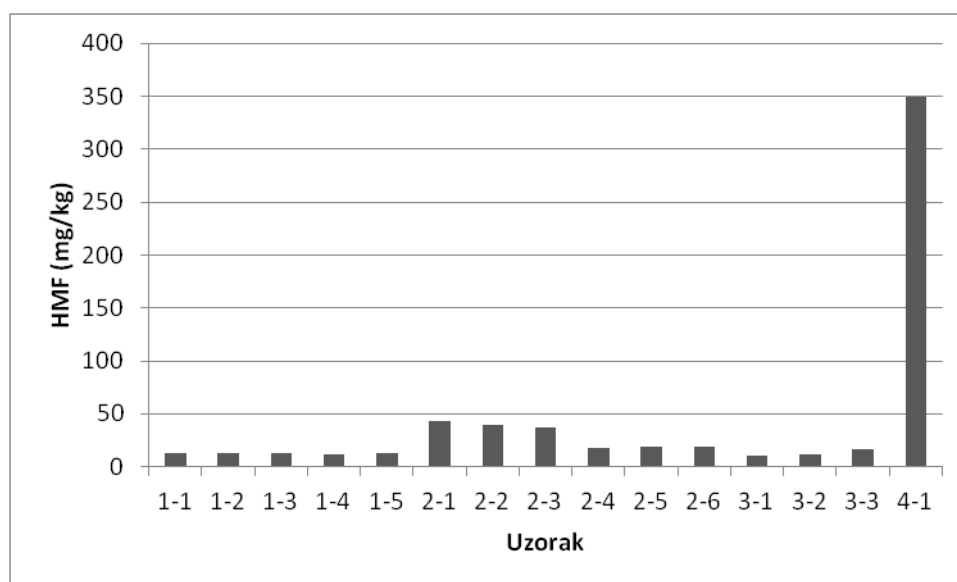
Grafikon 1. Udio vode u analiziranim uzorcima meda

Izmjerena električna vodljivost se kretala od 0,17 mS/cm do 0,52 mS/cm (Grafikon 2) . Prema Pravilniku o medu maksimalno dozvoljena vrijednost električne vodljivosti za većinu nektarnih vrsta meda je najviše 0,80 mS/cm.



Grafikon 2. Električna vodljivost u analiziranim uzorcima meda

S obzirom na sadržaj HMF-a utvrđene su vrijednosti pokazale velike razlike između pojedinih uzorka te su se kretale od 10,77 mg/kg do čak 349,69 mg/kg (Grafikon 3). Prema Pravilniku o medu maksimalno dozvoljena količina HMF-a iznosi 40 mg/kg te s obzirom na taj parametar dva uzorka nisu udovoljila zahtjevima Pravilnika. Za uzorak u kojem je količina HMF-a iznosila 349,69 mg/kg meliosopalinološkom analizom nije utvrđena prisutnost peludnih zrnaca, što ukazuje na moguću patvorenosti zbog iznimno visoke vrijednosti utvrđenog sadržaja HMF-a, jer vrijednosti iznad 100 mg/kg nisu posljedica pregrijavanja ili dugotrajnijeg skadištenja meda. Također, neutvrđivanje peludnih zrnaca ukazuje na patvorenost ili se radi o filtriranom medu. Međutim, ipak je veća vjerojatnost da se radi o patvorini jer u tom slučaju ne bi bila utvrđena tako visoka vrijednost sadržaja HMF-a.



Grafikon 3. Sadržaj hidrosimetilfurfurala u analiziranim uzorcima meda

Meliosopalinološka analiza pokazala je da se ispitani uzorci razvrstavaju u cvjetni med s najvišim udjelom suncokreta (*Helianthus annuus*) u svim ispitanim uzorcima, izuzev jednog uzorka koji nije imao peludi. Postotak peludi suncokreta u uzorcima kretala se od 25 % pa do 38%, crna gorušica (*Brasica nigra*) od 15 % do 19 %, djetelina (*Trifolium spp*) od 10 % do 15%.

## Zaključak

Analizom uzoraka iz ugostiteljskih objekata utvrđeno je da jedan uzorak nezadovoljavajuće kvalitete s obzirom na parametar hidroksimetilfurfurala i s obzirom na meliosopalinološku analizu. Uvijek na tržištu postoje proizvodi koji ne udovoljavaju zakonskoj regulativi i samim time se na tržištu ne bi trebali nalaziti. Stoga bi se učestalijim kontrolama izbjegla pojava proizvoda upitne kvalitete te povećala sigurnost i zaštita potrošača.

Dobiveni rezultati pokazuju da je med u ugostiteljskima Požeško – slavonske županije zadovoljavajuće kvalitete.

## Literatura

- Bagde A.B., Sawant R.S., Bingare, S.D., Sawai R.V., Nikumbh M.B. (2013). Therapeutic And Nutritional Values Of Honey [Madhu]. *International Research Journal of Pharmacy*. 4(3): 19-22: 2230-8407.
- Šarić G., Marković K., Major N., Krpan M., Uršulin-Trstenjak N., Hruškar M., Vahčić N. (2012). Changes of antioxidant activity and phenolic content in acacia and multifloral honey during storage. *Food Technology and Biotechnology*. 50(4): 434-441.
- International honey commission (IHC) (2009) Harmonised methods of the international honey commission. *Raspoloživo: <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>*
- Pravilnik o medu (2015). *Narodne novine* 53. *Raspoloživo: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015\\_05\\_53\\_1029.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015_05_53_1029.html)*
- Pravilnik o izmjenama Pravilnika o medu (2017). *Narodne novine* 47. *Raspoloživo: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017\\_05\\_47\\_1107.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017_05_47_1107.html)*
- Pravilnik o kakvoći uniflornog meda (2009). *Narodne novine* 122. *Raspoloživo: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009\\_10\\_122\\_3018.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_10_122_3018.html)*
- Pravilnik o izmjenama Pravilnika o kakvoći uniflornog meda (2013). *Narodne novine* 141. *Raspoloživo: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013\\_11\\_141\\_3024.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_11_141_3024.html)*
- Deutsches Institut für Normung e.V. (2002) DIN 10760:2002-05
- Šarić G., Matković D., Hruškar M., Vahčić N. (2008). Characterisation and classification of Croatian honey by physicochemical parameters. *Food Technology and Biotechnology* 46(4):355-367.
- Uršulin-Trstenjak N., Levanić D., Grabar I., Koldenjak M., Bošnjak J. (2017). Physico-chemical profiles of Croatian honey with an overview of its consumption among healthcare students. *Journal of Applied Health Sciences* 3(1): 51-59.
- Vahčić N., Matković D. (2009): *Kemijske, fizikalne i senzorske karakteristike meda*, *Raspoloživo: <https://dokumen.tips/documents/kemijske-fizikalne-i-senzorske-karakteristike-meda.html>*

## Quality of honey in catering facilities in Požeško-slavonska county

### Abstract

The object of this work was to determine the quality of honey served in catering facilities in Požeško-slavonska county. 15 samples of honey from 15 different facilities have been collected. Samples originated from only four manufacturers, but from different batches. There have been difference in quality parameters within the same batches. Two samples were not in accordance with Croatian legislation on honey (NN 53/2015, 47/2017), because of high concentrations of HMF 349,69 mg/kg (sample 4-1) and 43,26 mg/kg (sample 2-1). Melissopalynological analysis for the sample 4-1 could not prove any pollen grains, indicating forgery or filtered honey, while the other samples were classified into floral honey, as declared.

Key words: catering facilities, honey, quality, Požeško-slavonska county



## Distribution, age and growth of the translocated invasive Northern pike (*Esox lucius*, L.) in the upper course of the Vrljika River in the Adriatic Basin

Juraj Petravić<sup>1</sup>, Dajana Majnarić<sup>1</sup>, Krešimir Kuri<sup>1</sup>, Margarita Maruškić Kulaš<sup>1</sup>, Goran Jakšić<sup>1</sup>, Helena Jajčević<sup>2</sup>, Ivana Zrinščak<sup>3</sup>, Martina Petravić<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Public Institution AQUATIKA-FRESHWATER AQUARIUM KARLOVAC, Branka Čavlovića Čavleka 1A, 47000 Karlovac, Croatia (e-mail: jurajpetravic@gmail.com)

<sup>2</sup>Technical School Karlovac, Ljudevita Jonkea 2a, 47000 Karlovac, Croatia

<sup>3</sup>Hrvatski prirodoslovni muzej, Demetrova 1, 10000 Zagreb, Croatia

<sup>4</sup>Ministry of Agriculture, Ulica grada Vukovara 78, 10000 Zagreb, Croatia

### Abstract

The objective of this paper is to determine the distribution, age and growth the Northern pike (*Esox lucius*) in the upper course of the Vrljika river. Samples were collected for two consecutive days in February 2020. In total, 38 individuals of *E. lucius* were analysed. The age of *E. lucius* in the upper course of the Vrljika River is divided into six age classes, and the oldest individual belongs to the 9+ age class. The total length of *E. lucius* ranges from 17.8 to 90.0 cm, while the relative population density is two individuals per 100 m. The upper course of the Vrljika River is habitat to two invasive, and three endemic fish species.

**Key words:** pike, age, growth, the Vrljika River, Adriatic Basin, invasive

### Introduction

In Croatia, the Esocidae family is represented by one species, the Northern pike (*Esox lucius*). *E. lucius* lives in areas with a slow flow, preferring to keep to the thickets of aquatic vegetation (Lieberman et al., 2019), and primarily prefers shallow cool-waters which have productive and mesotrophic-eutrophic environments (Casselmann et al., 1996). Habitats of *E. lucius* in Croatia are the middle and lower courses of rivers and lakes. *E. lucius* is a native species to the Republic of Croatia, but has been translocated from the Danube drainage to the Adriatic Basin. According to the current knowledge of distribution of *E. lucius* in the rivers and lakes of the Adriatic Basin, it has been confirmed in the rivers Gacka, Lika, Cetina and Neretva, in Vransko Lake near Biograd, Vransko Lake on the island of Cres, and in Ponikve Lake on the island of Krk (Čaleta et al., 2019), but also in the Krka and Vrljika Rivers, as well as Prološko Blato Lake and Šarana Lake near Knin. At most of these localities, the pike populations have been present for several decades and the impact on local ichthyofauna can be assessed (Marčić et al., 2016). Translocation represents the introduction of a species from one part of a political entity (country) where it is native to another part of the same country where it is not native (Copp et al., 2005). According to FISK v2 for Croatia and Slovenia, *E. lucius* was categorised as an invasive fish species with mean value of 18.5 FISK score and a moderately high risk in the criteria of native species translocated from the Danube to the Adriatic Basin (Piria et al., 2016).

Information on the reasons, origin, location, number, sex and age of the individuals or the approximate year or time of the translocation of *E. lucius* into the Vrljika River is not known.

Aquatic ecosystems in Croatia are divided into two geographic units, the Adriatic and the Danube Basin. One of the greatest values of the Croatian ichthyofauna is the biodiversity of endemic and steno endemic species of fish of the Adriatic Basin. With a large number of endemics, the Adriatic rivers of the Dalmatia region are among the most interesting ichthyological areas in Europe. Unfortunately, the specialised habitats of these endemic species are quickly changing in modern times under anthropogenic impacts (Ćaleta et al., 2015). Human activities usually shift the balance among fish species, causing the extirpation of many indigenous species and the dominance of a reduced set of often introduced fish species (Balirwa et al., 2003). The movement of fish species beyond their natural range is potentially one of the most ecologically damaging of human activities (Koehn, 2004). The translocation of native species can have impacts upon indigenous populations of native fish, the general ecosystem into which translocations occur, as well as subsequent social and economic impacts over time (Morgan et al., 2004). Previous papers on the age, growth and distribution of the Northern pike in the Vrljika River are unknown.

## Materials and methods

### Study area

The Vrljika River springs near Proložac in Imotsko polje, at the altitude of 273 m above sea level and belongs to the Adriatic Basin. The shorter portion of its course flows through Croatia, 18 km in length, and then it crosses to the territory of Bosnia and Herzegovina near Runović, where it is called the Matica River. The study area includes a transect of 2100 m in length in the upper course of the Vrljika River, from Zdilari, UTM coordinates (WGS84) 47°23'06"N, 17°10'05" E, to the location with coordinates 47°26'14"N, 17°10'36" E. The width of the water column ranged from 5 to 30 m, and the depth ranged from 40 to 190 cm. According to the national classification, the study area belongs to upper and middle courses of turbulent waters. Riparian vegetation is present for most part of the banks, in the faster parts of the river bed it is mostly microphytes, while the edges of the river bed have thick submerse vegetation. The monitoring area belongs to the NATURA 2000 ecological network, and has been an ichthyological nature reserve since 1971, where sports fishing is prohibited. The upper course of the Vrljika River is the habitat of endemic fish species Sofemouth trout (*Salmo obtusirostris*), Spotted minnow (*Delminichthys adspersus*), and Neretva roach (*Rutilus basak*) (personal data).

### Fishing samplings

Samples were collected for two consecutive days in February 2020., with a Hans-Grassl IG600 electrofishing device, with a maximum power of 650 W of direct current and 1200 W of pulsating electric current, and with an EL64II electrofishing device with a maximum power of 7,5 kW of direct current. The samples were collected over the entire length of the transect, in such a way that the IG600 electrofishing device was used for the shallower edges of the river by walking along the river bed, while the EL64II was used from an inflatable boat for the deeper parts of the course and the middle of the river bed. Samples were taken throughout the channel width at all sampling locations. After collecting the samples, the species were determined according to the Kottelat and Freyhof (2007) determination key. All individuals were transported to a laboratory for further analysis. Three to five scales were taken from the body of each individual just under the dorsal fin. The scales were placed in an alcohol solution, then cleaned and dried. The age of the fish was determined by reading the annuli on scales through a binocular Motic ZS-171. The total length of each individual was measured with an ichthyometer with a 1 mm precision.

## Results

In total, 38 pike individuals were collected and analysed from the upper course of the Vrljika River. The distribution of *E. lucius* in the upper course of the Vrljika River begins 230 m downstream from the first sampling location, with UTM coordinates (WGS84) 47°23'06"N, 17°10'05"E, on the edges of the river bed with thick submersed vegetation, and continues until the end of the transect. Almost half of all the samples caught, 18 individuals, were caught in the first half of the transect with the length of 400 m, from the location with coordinates 43°26'52"N, 17°10'33"E to the location with coordinates 43°26'41"N, 17°10'30"E. Eight individuals were caught in the second half of the transect along the length of only 130 m, from the location with coordinates 43°26'22"N, 17°10'29"E to the location with coordinates 47°26'14"N, 17°10'29"E. Relative population density of *E. lucius* in the upper stream of the Vrljika River is two individuals per 100 m, and the population has an uneven spatial layout (Figure 1).



Figure 1. Map of the upper course of the Vrljika river with sampling locations

The age of *E. lucius* in the upper stream of the Vrljika River is divided into six age classes: 0+, 1+, 2+, 4+, 5+ and 9+. Most individuals belonged to the 0+ and 1+ age classes with an almost even share, while the 4+ and 9+ classes were represented by only one individual. Age classes 3+, 6+, 7+ and 8+ were not found in this research. (Figure 2a).

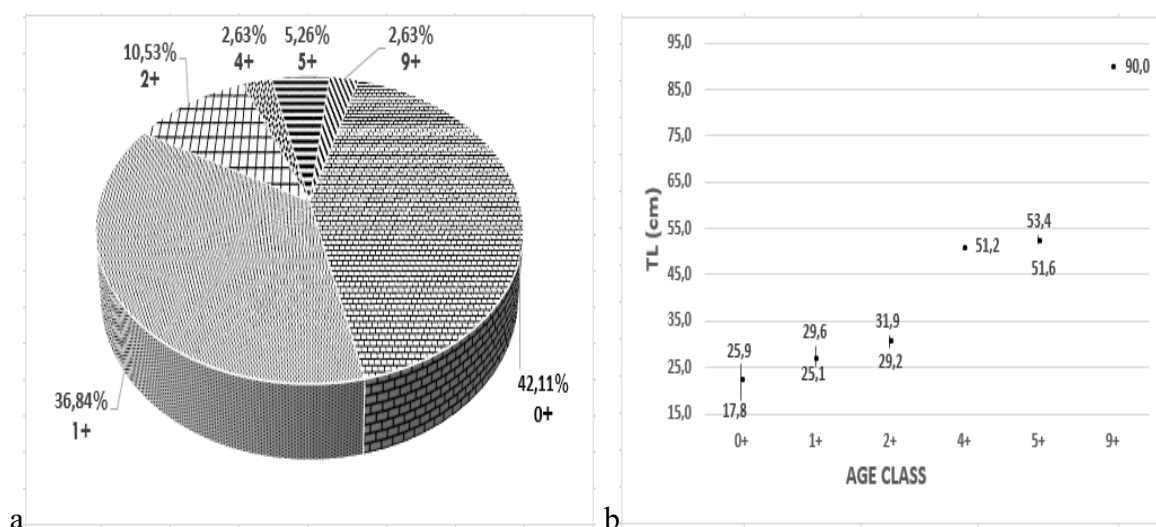


Figure 2. Relative abundance by age classes of *E. Lucius* in the upper course of the Vrljika River a), Total length of *E. Lucius* aged from 0+ to 9+ caught in the upper course of the Vrljika River b) (The vertical bar represents the range, point represents the mean TL)

The average total body length of the entire sample is 29.3 cm, ranging from 17.8 to 90 cm  $\pm$  12.7 cm SD (Figure 2b). The available data shows positive correlation between total length and age class ( $R^2=0,83$ ).

Apart from *E. lucius*, three individuals of an invasive species Pumpkinseed, *Lepomis gibbosus*, were caught in the upper course of the Vrljika River and transported to the laboratory for further analysis, as well as endemic species *S. obtusirostris*, *D. adspersus*, and *R. basak*, which were returned to river instantly.

## Discussion

*E. lucius* individuals in the upper course of the Vrljika River were caught in two types of habitat; in edging, slower and shallower parts of the course next to rapids and waterfalls, or in relatively bigger, deeper areas of the slower course of the river. Regardless of these two types of habitat, all individuals were caught in parts of the course with thick aquatic vegetation. It has been found that if a greater number of individuals was caught in a smaller surface area of the transect, the individuals were similar in size. On the other hand, bigger individuals were caught in bigger surface areas without the presence of other individuals. This kind of distribution of population density and the size of individuals is most likely connected with the cannibalism of this species. The cannibalism of *E. lucius* has been described in many previous papers (Mann, 1982., Kipling, 1983., Elvira et al., 1996). In Scotland, large pike preyed on smaller pike (Munro, 1957), in River Frome cannibalism on pike aged between six months and two years accounted for most of their natural mortality (Mann, 1982). The pike actually prefer prey fish that are smaller than predicted from optimal foraging models based on energy and time budgets (Hart et al., 1984). The absence of the 3+, 6+, 7+ and 8+ age classes can be caused by unfavourable biotic conditions, no spawning or poor spawning in particular years, but also by inter-cohort cannibalism in which older fish eat younger age classes, which can have a strong density-dependent impact on year class strength. In lakes where one or only a few species occur, cannibalism may be the major population regulatory mechanism (Helfman et al., 2009).

When comparing the total length and age classes of the *E. lucius* analysed in this paper with the results of caught in the Danube Basin, (Habeković et al., 1998), the *E. lucius* from this paper have a significantly smaller total length in all age classes when compared with *E. lucius* from the Danube Basin. *E. lucius* from the Danube Basin from age classes 1+ and 5+ have a total length ranging from 30.0 to 37.5 cm and 66.0 to 71.00 cm, while the total length of the individuals from this paper belonging to the same age classes ranges from 25.1 to 29.6 and 51.6 to 53.4 cm. The reason for this can be seen in the qualitatively and quantitatively larger range of ichthyocenosis in the Danube Basin, which enables a larger choice of food, its availability and an easier access to food. The results from this paper concerning total length in regard to age classes are very similar to those of *E. lucius* from the Rubikiai Lake in Lithuania (Žiliukiene et al., 2012).

## Conclusion

According to the oldest age class in this paper, one can conclude that the *E. lucius* has been present in the Vrljika River for at least ten years. Six different age classes show that the *E. lucius* spawns in the Vrljika River in the years of favourable biotic and abiotic conditions. *E. lucius* from the upper course of the Vrljika River have a smaller total length in regard to age than the *E. lucius* from the Danube Basin. Apart from middle and lower courses of rivers of the Danube Basin, the *E. lucius* also inhabits the upper course by the very spring of the Vrljika River. The upper course of the Vrljika River is habitat to invasive species *E. lucius* and *L. gibbosus*, but also three endemic fish species *S. obtusirostris*, *D. adspersus* and *R. basak*.

## References

- Balirwa S. J., Chapman A. C., Chapman J. L., Cowx G. I., Geheb K., Kaufman L., Lowe-McConnell H. R., Seehausen O., Wanink H. J., Welcomme L. R., Witte F. (2003). Biodiversity and Fishery Sustainability in the Lake Victoria Basin: An Unexpected Marriage? *BioScience* 53(8): 703-715.
- Čaleta M., Buj I., Mrakovčić M., Mustafić P., Zanella D., Marčić Z., Duplić A., Mihinjač T., Katavić I. (2015). Hrvatske endemske ribe. Agencija za zaštitu okoliša, Zagreb, 116pp.
- Čaleta M., Marčić Z., Buj I., Zanella D., Mustafić P., Duplić A., Horvatić S. (2019). A review of extant Croatian freshwater fish and lampreys -Annotated list and distribution. *Croatian Journal of Fisheries* (77): 137-234.
- Casselman J.M., Lewis C.A. (1996). Habitat requirements of northern pike (*Esox lucius*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* (53): 161-174.
- Copp G.H., Bianco P.G., Bogutskaya N.G., Erős T, Falka I., Ferreira M.T., Fox M.G., Freyhof J., Gozlan R.E., Grabowska J., Kováč V., Moreno-Amich R., Naseka A.M., Peňáz M, Povž M., Przybylski M., Robillard M., Russell I.C., Stakenas S., Šumer S., Vila-Gispert A., Wiesner C. (2005). To be or not to be, a non-native freshwater fish?, *Journal of Applied Ichthyology* (21): 242-262.
- Elvira B., Nicola G. G., Almodovar A. (1996). Pike and red swamp crayfish: a new case on predator – prey relationship between aliens in central Spain. *Journal of Fish Biology* (48): 437–446.
- Habeković D., Pažur K. (1998). Štuka (*Esox lucius*) – njezine osobine i značenje. *Ribarstvo* 56(2): 55-60.
- Hart P. J. B., Connellan B. (1984). Cost of prey capture, growth rate and ration size in pike, *Esox lucius* L., as functions of prey weight. *Journal of Fish Biology* 25(3): 279-292.
- Helfman S. G., Collette B. B., Facey E. D., Bowen W. B. (2009). *The Diversity of Fishes*. Wiley-Blackwell Publishing, West Sussex, UK.
- Kipling C. (1983). Changes in the population of pike (*Esox lucius*) in Windermere from 1944 to 1981. *Journal of animal Ecology* (52): 989-999.
- Koehn, D. J. (2004). "Carp (*Cyprinus carpio*) as a powerful invader in Australian waterways." *Freshwater biology* 49(7): 882-894.

- Kottelat M., Freyhof J. (2007). Handbook of European Freshwater Fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany.
- Lieberman E. L., Voropaeva E. L., Kozlov S. A. (2019). Parasitofauna of pike *Esox lucius* of the Lower Tobol (Russia). Biosystems Diversity 27(3): 214–220.
- Mann R. H. K. (1982). The annual food consumption and prey preferences of pike (*Esox lucius*) in the River Frome, Dorset. Journal of Animal Ecology (51): 81-95.
- Marčić Z., Mustafić, P., Zanella D., Čaleta M., Buj I., Mihinjač, T., Mrakovčić M. (2016). Translocated predators in freshwater ichthyofauna of the Adriatic basin. Book of abstracts of FINS II conference / Assoc. prof. Marina Piria – Zagreb. Horvat tisak d.o.o. 36-37.
- Morgan D. L., Gill H. S., Maddern M. G., Beatty S. J. (2004). "Distribution and impacts of introduced freshwater fishes in Western Australia." New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research (38):511-523.
- Munro W. R. (1957). The pike of Loach Choin. Freshwater and Salmon Fisheries Research Scottish Home Department (16): 1-16.
- Piria M., Povž M., Villizi L., Zanella D., Simonović P., Copp H. G. (2016). Risk screening of non-native freshwater fishes in Croatia and Slovenia using the Fish Invasiveness Screening Kit. Fisheries Management and Ecology (23): 21–31.
- Žiliukiene V., Žiliukas V. (2012). Spawning population characteristics of pike *Esox lucius* L. in Lake Rubikiai (Lithuania). Central European Journal of Biology 7(5): 867-877.

## **Rasprostranjenost, dob i rast translocirane invazivne vrste štuke (*Esox Lucius*, L.) u gornjem toku rijeke Vrljike u Jadranskom slivu.**

### **Sažetak**

Cilj ovog rada je utvrditi rasprostranjenost, dob i rast štuke (*Esox lucius*) u gornjem toku rijeke Vrljike. Uzorci su prikupljeni dva dana zaredom u veljači 2020. godine, analizirano je ukupno 38 jedinki *E. lucius*. Dob *E. lucius* u gornjem toku rijeke Vrljike je raspodijeljena u šest dobnih razreda, a najstarija jedinka pripada 9+ dobnom razredu. Raspon ukupne dužine tijela *E. lucius* je između 17,8 i 90,0 cm, dok je relativna gustoća populacije dvije jedinke na 100 m. Gornji tok rijeke Vrljike stanište je dvije invazivne i tri endemske vrste riba.

Ključne riječi: štuka, dob, rast, rijeka Vrljika, jadranski sliv, invazivna

## Bioraznolikost školjkaša na kolektorima za ličinke školjkaša na ušću Cetine

Zvezdana Popović Perković<sup>1</sup>, Jelena Kurtović Mrčelić<sup>2</sup>, Josip Boban<sup>3</sup>, Tina Bonačić<sup>1</sup>, Maja Krželj<sup>1</sup>, Marin Ordulj<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilišni odjel za studije mora, Sveučilište u Splitu, Ruđera Boškovića 37, 21000 Split, Hrvatska (kontakt: zvezdana.popovic@unist.hr)

<sup>2</sup>Javna ustanova za upravljanje zaštićenim dijelovima prirode na području Splitsko-dalmatinske županije MORE I KRŠ, Prilaz braće Kaliterna 10, 21000 Split, Hrvatska

<sup>3</sup>Prirodoslovni muzej i zoološki vrt, Poljana Kneza trpimira 3, 21000 Split, Hrvatska

### Sažetak

U radu su prikazani preliminarni podatci istraživanja zajednice školjkaša na kolektorima ličinki školjkaša postavljenih na tri lokacije područja ekološke mreže Natura 2000 Ušće Cetine (HR3000126) sa tri replike na dubinama od 2, 4, 6, 8 i 10m. Kolektori ličinki školjkaša su postavljeni s ciljem prikupljanja ličinki dugoživućeg, strogo zaštićenog i kritično ugroženog, sredozemnog endemskog školjkaša plemenite periske *Pinna nobilis* Linnaeus 1758. Eksperiment je postavljen u lipnju 2020. godine a nakon odležavanja od pet mjeseci determinirano je prisutstvo ukupno 11 porodica sa ukupno 16 vrsta školjkaša te prikupljenom jednom juvenilnom jedinkom vrste *Pinna nobilis* duljine 12mm.

**Ključne riječi:** školjkaši, bioraznolikost, kolektori, ušće Cetine

### Uvod

Biološka raznolikost je ključni pokazatelj zdravlja ekosustava. Prisutnost širokog raspona vrsta bolje će se prilagoditi različitim prijetnjama od ograničenog broja vrsta u velikim populacijama. Čak i ako su određene vrste pogođene onečišćenjem, klimatskim promjenama ili ljudskim aktivnostima, ekosustav u cjelini može se prilagoditi i preživjeti. Međutim izumiranje vrste može imati nepredviđene učinke, ponekad uništavajući čitave ekosustave (Chivan i Bernstein 2010.). Masovna smrtnosti jedinki vrste *Pinna nobilis* uzrokovana patogenom *Halosporidium pinnae* je prvi put zabilježena na širokom geografskom području španjolske obale zapadnog Sredozemnog mora početkom jeseni 2016. godine s izrazito visokom stopom smrtnosti dostižući i do 100% u praćenim populacijama (Vázquez-Luis i sur., 2017.) te se je brzo proširila put istoka (Cabanellas-Reboredo et al., 2019., Katsanevakis et al., 2019., Kersting et al., 2019., Panarese et al., 2019.). Na južnom dijelu hrvatske obale Jadrana masovna smrtnost vrste *Pinna nobilis* prvi put je zabilježena u svibnju 2019. godine a do početka rujna 2019. godine proširila se 300 km u smjeru sjeverozapada s pogođenim populacijama izloženim otvorenom moru, a potom i populaciji bliže obali (Šarić i sur. 2019.). Čižmek i sur. (2020.) su u svibnju 2019. godine na Elafitskim otocima utvrdili pojavu masovne smrtnosti čija je razina na području Šipanske luke bila najveća (76 %) dok je bila najmanja na Koločepu (36 %). Područja ekološke mreže Ušće Cetine (HR3000126) je obalno morsko područje s pjeskovitim i muljevitim dnom sa izraženim antropogenim utjecajem unutar kojeg su obitavale značajne populacije vrste *Pinna nobilis* od čak 57 jedinki na 100 m<sup>2</sup> čiji je pomor zabilježen u srpnju 2019. godine a do siječnja 2020. godine unutar polja praćenja je bio 100 % (Kurtović Mrčelić, 2020.). Eventualni oporavak zaraženih populacija ovisit će uglavnom o postojanju zdravih populacija, otpornih jedinki i novačenja stoga je važno procijeniti novačenje ličinki kako bi se procijenilo dosežu li ličinke koje dolaze s područja bez oboljelih jedinki ili otpornih jedinki do zaraženih područja, čime

potencijalno pridonose oporavku vrste (Kersting i sur. 2020.). Također bitno je prikazati podatke analize bioloških zajednica školjkaša na kolektorima ličinki školjkaša koji su značajni za precizno predviđanje budućih promjena u morskom ekosustavu kao i za donošenje prilagođenih mjera upravljanja i očuvanja ugroženih vrsta (Cabanellas-Reboredo i sur., 2019.).

### Materijal i metode

Po tri replike eksperimentalnih polietilenskih kolektora (vrećice za povrće) za prikupljanje ličinki školjkaša (Slika 1) su postavljeni u lipnju 2020. godine na tri lokacije na ušću Cetine: Punta sredina (HTRS96 515605.220; 4811327.260) na 2m dubine, Punta početak (HTRS96 515345.760; 4810867.340) 2 i 4m dubine te Mala Luka (HTRS96 517358.460; 4808803.840) na 2, 4, 6, 8 i 10m dubine. Kolektori su postavljeni vertikalno na usidrenoj liniji, uvidanom u morsko dno i s plutačom na površini, tako da se nalaze na različitim dubinama sa međusobnim razmakom od 2m. Usidrene linije replika su međusobno udaljene minimalno 10m. U studenom 2020. godine sve kolektore ličinki školjkaša, osim jedne replike na lokaciji Mala luka koja je nestala dan nakon postavljanja, su prikupili SCUBA ronionci. Prikupljeni kolektori školjkaša su obrađivani u odvojenim kadicama zapremnine 70L sa svježom morskom vodom gdje su ručno izdvojeni svi obraštajni organizmi koji su zatim procijeđeni na situ veličine 30 $\mu$ m te pohranjen u 96% alkohol do daljnje laboratorijske analize.



Slika 1. Prikupljena juvenilna jednika vrste *Pinna nobilis* (lijevo) i eksperimentalni kolektor ličinki školjkaša na 2m dubine (desno).

Prilikom laboratorijske analize su odvojene, slikane i determinirane pronađene vrste školjkaša na Olympus stereo lupi SZX10. Svi podatci su uneseni u Microsoft Excel za daljnje analize. Determinacija jedinki je obavljena prema Nikiforos (2005) i Giannuzzi-Savelli i sur. (2001.) dok je za potrebe klasifikacije i nomenklature korišten europski registar morskih vrsta (Costello i sur. 2001.)



## Rezultati i rasprava

Rezultati analize kolektora sa tri lokaliteta na Ušću Cetine su prikazani u Tablici 1 i 2.

Tablica 1. Bioraznolikost školjkaša na kolektorima ličinki školjkaša na području ekološke mreže Natura 2000 - Ušće Cetine (Punta početak – P; Punta sredina – V).

VRSTA ŠKOLJKAŠA	P 1 2m	P 1 4m	P 2 2m	P 2 4m	P 3 2m	P 3 4m	V 1 2m	V 2 2m	V 3 2m
<i>Anomia ephippium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Arca noae</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	+
<i>Flectopecten hyalinus</i>	+	-	-	-	+	-	-	+	+
<i>Hiatella rugosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Limaria sp.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Mimachlamys varia</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Modiolus adriaticus</i>	+	-	-	+	+	-	-	-	+
<i>Modiolus barbatus</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Musculus costulatus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Musculus subpictus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	-	+	-	-	+	+	-	+	-
<i>Ostrea edulis</i>	+	+	-	-	-	-	-	+	-
<i>Parvicardium exiguum</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+
<i>Pinctada imbricata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pinna sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudochama gryphina</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Tablica 2. Bioraznolikost školjkaša na kolektorima ličinki školjkaša u području ekološke mreže - Ušće Cetine (Mala luka –ML).

VRSTA ŠKOLJKAŠA	ML 1 2m	ML 1 4m	ML1 6m	ML 1 8m	ML 1 10m	ML 2 2m	ML 2 4m	ML 2 6m	ML 2 8m	ML 2 10m
<i>Anomia ephippium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Arca noae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Flectopecten hyalinus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Hiatella rugosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Limaria sp.</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
<i>Mimachlamys varia</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
<i>Modiolus adriaticus</i>	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>Modiolus barbatus</i>	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+
<i>Musculus costulatus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Musculus subpictus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Ostrea edulis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+

<i>Parvicardium exiguum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pinctada imbricata</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pinna nobilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Pseudochama gryphina</i>	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-

Tijekom eksperimenta analizirano je 9472 jedinke te je determinirano 16 različitih vrsta školjkaša iz porodice Anomiidae, Arcidae, Pectinidae, Hatellidae, Limidae, Mytilidae, Ostreidae, Cardidae, Margaritidae, Pinnidae i Chamidae. Iz navedenih rezultata je vidljivo da su na svim postavljenim kolektorima i lokacijama najčešće vrste *Musculus costulatus*, *Musculus subpictus*, *Anomia ephippium*, *Hiatella rugosa* i *Limaria sp.* Najveći broj jedinki u eksperimentu je zabilježen na lokaciji Punta početak na trećoj liniji na 2m dubine gdje je zabilježeno 1046 jedinki vrste *Musculus subpictus*. Predstavnici porodice Mytilidae su imali najviši broj jedinki na kolektorima. Komercijalno značajnije vrste koje su pronađene na kolektorima ličinki školjkaša su *Arca noae*, *Mimachlamys varia*, *Modiolus barbatus*, *Mytilus galloprovincialis*, *Ostrea edulis* i *Pinctada imbricata*. Na lokaciji Mala luka na drugoj liniji na 6 m dubine je prikupljena juvenilna jedinka vrste *Pinna sp.* koja je kasnije determinirana kao *Pinna nobilis*. Pronađena jedinka je u namjenskom prijenosnom akvariju otpremljena u Akvarij Pula na uzgoj u ex-situ uvjetima. Prikupljenoj jedinci je izmjerena anteriorno-posteriorna duljina od 12mm.

Prema dosadašnjim saznanjima na području ušća Cetine do sada nisu rađena istraživanja prihvata ličinki školjkaša na kolektorima međutim provedeno je istraživanje zajednica školjkaša u sedimentu ušća Cetine s ciljem procjene populacija komercijalno važnih vrsta gdje su hidrauličnom drežom prikupljene 32 vrste uključujući *Mytilus galloprovincialis*, *Ostrea edulis*, *Arca noae*, *Chlamys sp.*, *Modiolus adriaticus*, *Modiolus barbatus* koje su zabilježene i u ovom istraživanju. U gore navedenom istraživanju područje je pokazalo visoku prostornu heterogenost staništa i raznolikost školjkaša za razliku od ostalih istraživanih područja istočnog Jadrana međutim prema autorima metodologijom koja nije primjerena za procjenu bioraznolikosti školjkaša ali doprinosi znanju o njihovoj rasprostranjenosti (Peharda i sur. 2010.). Kolektori ličinki školjkaša kao u ovom istraživanju su upotrebljeni na području ušća rijeke Krke ali s ciljem uspostave kontroliranog uzgoja u prirodnom staništu vrste *Chlamys varia* (Marguš i sur. 2005.) sada *Mimachlamys varia* koju smo zabilježili na kolektorima i u ovom istraživanju. Analiza biološke raznolikosti školjkaša na različitim eksperimentalnim kolektorima u Jadranu je rađena 2018. godine u Bokokotorskom zaljevu gdje je identificirano 9 porodica sa ukupno 15 različitih vrsta školjkaša (Peraš i sur. 2018.) što je slično rezultatima ovog istraživanja sa zabilježenih devet istih vrsta *Anomia ephippium*, *Chlamys varia*, *Hiatella rugosa*, *Lima hians*, *Modiolarca subpicta*, *Mytilus galloprovincialis*, *Ostrea edulis*, *Pinna nobilis*, *Pinctada radiata*. Istraživanja novačenja ličinki *Pinna nobilis* na polietilenskim kolektorima (vrećice za povrće) je praćeno u istraživanjima i prije pojave masovnog mortaliteta Acarli (2011.) u istočnom Egejskom moru gdje je uz ličinke vrste *Pinna nobilis* zabilježeno još 14 vrsta školjkaša iz 10 porodica te Cabanellas-Reboredo i sur. (2009.) naznačujući da je prihvata ličinki beskralježnjaka kompleksan proces koji ovisi o interakciji biotskih i abiotskih faktora u vremenskoj i prostornoj komponenti gdje na disperziju ličinki utječu promjene u okolišu a na uspjeh kolonizacije lokalni uvjeti kao što je hidrodinamizam specifičan za lokaciju te antropogeni faktori.

## Zaključak

Rezultati ovog istraživanja su prikazali kvalitativnu analizu prihvata mlađi školjkaša na kolektorima postavljenim u području ekološke mreže Ušće Cetine (HR3000126) što je značajan podatak za buduća praćenja promjena u biološkoj raznolikosti školjkaša te ukazuju da područjem prolazi stuja koja od nekud nosi ličinke živih jedinki vrste *Pinna nobilis* dakle ukazuje na postojanje živih i eventualno rezistentnih jedinki. Dugoročnim praćenjem moći će se utvrditi da li još uvijek postoji novačenje ličinki vrste *Pinna nobilis* na ovom području.

## Literatura

- Acarli S., Lok A., Acarli D. (2011). Preliminary spat settlement of fan mussel *Pinna nobilis* Linnaeus 1758 on a mesh bag collector in Karantina Island (Eastern Aegean Sea, Turkey). *Fresenius Environmental Bulletin*. 20(10): 2501-2507.
- Cabanellas-Reboredo M., Vázquez-Luis M., Mourre B., Álvarez E., Deudero S., Amores A., Addis P., Ballesteros E., Barrajón A., Coppa S., García-March J.R., Giacobbe S., Giménez Casalduero F., Hadjioannou L., JiménezGutiérrez S.V., Katsanevakis S., Kersting D., Mačić V., Mavrič B., Patti F.P., Planes S., Prado P., Sánchez J., Tena J., Medialdea, de Vaugelas J., Vicente N., Belkhamssa F.Z., Zupan I., Hendriks I.E. (2019). Tracking a mass mortality outbreak of pen shell *Pinna nobilis* populations: A collaborative effort of scientists and citizens. *Scientific Report*. 16;9(1): 13355.
- Chivian E., and Bernstein A. (2010). *How Our Health Depends on Biodiversity*. Center for Health and the Global Environment, 24. Boston, SAD: Harvard Medical School
- Costello M.J., Emblow C., White R.J. (2001). European register of marine species: a check-list of the marine species in Europe and a bibliography of guides to their identification. *Collection Patrimoines Naturel*, 50. Muséum national d'Historie naturelle, Paris, 463 pp.
- Čižmek H., Čolić B., Gračan R., Grau A., Catanese G. (2020). An emergency situation for pen shells in the Mediterranean: the Adriatic Sea, one of the last *Pinna nobilis* shelters, is now affected by a mass mortality event. *Journal of Invertebrate Pathology*, 173: 107388.
- Giannuzzi-Savelli R., Pusateri F., Palmeri A., Ebreo C., Coppini Margelli A., Bogi C., Cosel R. (2001). *Atlas of the Mediterranean Seashells / Atlante delle Conchiglie Marine del Mediterraneo*, (7): 250, Roma, Italy: Evolver
- Katsanevakis S., Tsirintanis K., Tsaparis D., Doukas D., Sini M., Athanassopoulou F. (2019). The cryptogenic parasite *Haplosporidium pinnae* invades the Aegean Sea and causes the collapse of *Pinna nobilis* populations. *Aquatic Invasions*. 14: 150–164.
- Kersting D., Benabdi M., Čižmek H., Grau A., Jimenez C., Katsanevakis S., et al. (2019). *Pinna nobilis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019. e.T160075998A160081499.
- Kersting D.K., Vázquez-Luis M., Mourre B., Belkhamssa F.Z., Álvarez E., Bakran-Petricioli T., Barberá C., Barrajón A., Cortés E., Deudero S., García-March J.R., Giacobbe S., Giménez-Casalduero F., González L., Jiménez-Gutiérrez S., Kipson S., Llorente J., Moreno D., Prado P., Pujol J.A., Sánchez J., Spinelli A., Valencia J.M., Vicente N., Hendriks I.E. (2020). Recruitment Disruption and the Role of Unaffected Populations for Potential Recovery After the *Pinna nobilis* Mass Mortality Event. *Frontiers in Marine Science* 7.
- Kurtović Mrčelić J. (2019). Monitoring populacija plemenite periske (*Pinna nobilis*) u Natura 2000 području Ušće Cetine, Izvješće JU More i Krš. 10.
- Marguš D., Teskeredžić E., Teskeredžić Z., Tomec M. (2005). Prihvat ličinki, preživljavanje i rast mlađi malih kapica (*Chlamys varia*, Linnaeus 1785) u kontroliranom uzgoju u uvali Šarina Draga – Ušće rijeke Krke. *Ribarstvo*. 63: 91-103.
- Nikiforos G. (2008). Molluschi con conchiglia evidente. *Fauna del Mediterraneo*. Gruppo Editoriale (eds.), 192-219. Firenze, Italy: Giunti Editore
- Panarese R., Tedesco P., Chimienti G., Latrofa M. S., Quaglio F., Passantino G. (2019). *Haplosporidium pinnae* associated with mass mortality in endangered *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) fan mussels. *Journal of Invertebrate Pathology*. 164: 32–37.

- Peharda M., Ezgeta Balić D., Vrgoč N., Isajlović I., i Bogner D. (2010). Description of bivalve community structure in the Croatian part of the Adriatic Sea – hydraulic dredge survey. *Acta Adriatica*. 51(2): 141-158.
- Peraš I., Gvozdenović S., Petović S., Mandić M. (2018). Comparative Analysis of Bivalves Diversity on Experimental Spat Collectors. *Water Research and Management*. 8(2): 25-31.
- Šarić T., Župan I., Šikić Z., Peharda M., Pavlinec Ž., Zupicic I.G., Beck R., Oraic D. (2019). Health status of *Pinna nobilis* in the Croatian part of Eastern Adriatic coast., 19th International Conference On Diseases Of Fish And Shellfish; Porto, Portugal; 9-12th September 2019.
- Vázquez-Luis M., Álvarez E., Barrajon A., García-March J.R., Grau A., Hendriks I.E., Jiménez S., Kersting D., Moreno D., Pérez M., Ruiz J.M., Sánchez J., Villalba A., Deudero S. (2017). S.O.S. *Pinna nobilis*: A Mass Mortality Event in Western Mediterranean Sea. *Frontiers in Marine Science*. 220.

## Shellfish biodiversity on a larvae mesh bag collector at the Cetina estuary

### Abstract

The aim of the paper is to present preliminary shellfish community data on shellfish larvae mesh bag collectors placed at three locations in the ecological network – Natura 2000 Cetina estuary (HR3000126) with several replicas at different depths at 2, 4, 6, 8 and 10 m. Larvae mesh bag collectors were set up to collect long-lived, strictly protected and critically endangered, Mediterranean endemic bivalve *Pinna nobilis* Linnaeus 1758. The experiment was set up in June 2020 and after five months of immersion the presence of 11 families with 16 bivalve species was established with one juvenile individual of *Pinna nobilis* total of 12mm in length.

**Keywords:** bivalves, biodiversity, mesh bag collectors, Cetina estuary

## The influence of pollen trap type on the amount of collected bee pollen and honey bee colony development

Saša Prđun<sup>1</sup>, Matea Barić<sup>1</sup>, Marica Maja Dražić<sup>2</sup>, Dragan Bubalo<sup>1</sup>, Lidija Svečnjak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Zagreb Faculty of Agriculture, Svetosimunska 25, Zagreb, Croatia (e-mail: sprdjun@agr.hr)

<sup>2</sup>Ministry of Agriculture, Ilica 101, 10000 Zagreb, Croatia

### Abstract

Bee pollen is a valuable product collected from the honey bee colony using different types of pollen traps. The aim of this study was to determine the effect of different pollen trap types on the amount of collected bee pollen and the development of honey bee colony. The study was conducted on nine *Apis mellifera carnica* colonies. Comparing the average amount of collected pollen in April (89.49 g/day) and May (80.82 g/day), no significant difference was found ( $p=0.2289$ ). An average of 70.77 g/day of bee pollen/hive was collected using front-mounted pollen traps, and 101.37 g/day was collected from the colonies with bottom-mounted traps. No significant differences were found in the number of bees ( $p=0.1492$ ), cells with honey ( $p=0.1143$ ), pollen ( $p=0.8066$ ), and brood cells ( $p=0.0608$ ). The results indicate a significant difference ( $p<0.0001$ ) of pollen trap type on the amount of collected bee pollen, but there is no effect on honey bee colony development.

**Keywords:** *Apis mellifera carnica*, pollen trap, bee pollen, colony development

### Introduction

Honey bees (*Apis mellifera*) are one of the most important insect species. They are used in agriculture for pollination of many fruit and vegetable crops to ensure and increase yields, but their immense importance is also reflected in maintaining plant biodiversity. Unlike other flower-visiting solitary insects, honey bees collect large quantities of pollen and nectar (Gameda et al., 2018). Pollen contains carbohydrates, proteins, fibers, fats and many other substances necessary in the bee's physiological processes (Bogdanov, 2016). Some pollen types are classified as highly nutritious, while others exhibit a marginal value. The knowledge of the pollen flow periods in the area can be used to determine when pollen substitutes or supplements should be supplied in an apiary, thus resulting in better development of the colony. Pollen is highly important for the development of the brood and the vitality of the colony in general. Pollen is the only source of protein for honey bees and an irreplaceable source of fat (Campos et al., 2010), which is needed for the production of energy and structural components of cell membranes. A change in colonies pollen reserve can trigger a change in the forager's behavior (Dogterom and Markl, 1999). The absence of pollen can have a significant impact on the strength of the colony and on honey production (Dimou et al., 2006). In the spring beekeepers can collect pollen for their own needs or for commercial purposes using pollen traps. Numerous factors influence the amount of collected pollen: colony strength (Donaldson-Matasci et al., 2013), the amount of open brood (Dreller and Tarpy, 2000), the time of day when pollen is collected, the season (Campos et al., 2010) and the type of pollen trap (Dimou et al., 2006). Besides commercial use (pollen collection), pollen traps fitted to honey bee hives are useful for investigating honey bee foraging behavior. There is a large variety of different pollen trap designs, but all of them consist of some type of grid which removes the pollen load from the hind legs of the forager when it enters the hive. The beekeepers mostly use external pollen traps (front-mounted), which are

placed at the entrance of the beehive, and internal traps (bottom-mounted), which are placed on the floor of the beehive, where they are also protected from external weather. Each type has its advantages and disadvantages. The effectiveness of the trap depends on its type, the size of the bee and the size of the pollen load. The percentage of collected pollen load varies considerably depending on various factors, but is always well below 100%. During the growing season, the percentage of pollen trap efficiency of the same hive can vary between 3 and 25% (Keller et al., 2005, Campos et al., 2010). Some of the explanations for the different efficiency of the pollen trap are small differences in the performance and quality of the material, variations in the average worker size, as well as a different plant origin of the pollen (Keller et al., 2005). If the bee colony moves to a location rich in plant species with larger pollen, the efficiency of the pollen trap can be increased by up to 60%. Due to mentioned differences, pollen traps never remove the pollen load from all bees, thus allowing them to bring some of the pollen into the colony and ensure its development. Honey bee colony can collect from 50 to 250 g of pollen per day (Kieliszek et al., 2018), even more during *Castanea sativa* or *Amorpha fruticosa* pollen flow because these plants are known as producers of very large amounts of pollen. Under European conditions, 1.4 to 17.8 kg of pollen is usually collected per honey bee colony depending on the length of the vegetation season in which the pollen is collected (Campos et al., 2010, Avni et al., 2014, Lau et al., 2019) and weather conditions during pollen flow. Contrary, Zuluaga et al. (2015) reported that honey bees collect from 15 to 40 kg of pollen per year. However, depending on the collection method applied (pollen trap type), reduced pollen uptake by bees can have a direct impact on the vitality of the bee colony and on honey production. Most of the studies on this topic are based on the use of pollen traps for the purpose of determining the botanical origin of the collected bee pollen. However, to our best knowledge there are no reports on the influence of pollen trap types on honey bee colony. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of different pollen trap types on the amount of collected pollen and the development of the honey bee colony.

## Material and methods

### Honey bee colonies

The study was conducted at the experimental apiary of University of Zagreb Faculty of Agriculture, Croatia (GPS coordinates X 45495224, Y 16146349) during April and May 2019. Nine honey bee colonies of the Carniolan honey bee (*Apis mellifera carnica* Pollman, 1879), placed in Langstroth hives and divided into three groups (three colonies per group) were used. At the beginning of the experiment the colonies were uniformed according to the Liebefeld method (Imdorf and Gerig, 2001, Dainat et al., 2020). In the first group front-mounted pollen traps were used, in the second bottom-mounted traps, while the third group was the control group without pollen traps. In each colony, the strength (adult workers) and the number of cells with brood (open and capped), honey and pollen stores were assessed four times during the study (two times in April and two in May) using the Liebefeld method.

Bee pollen was collected for 30 times (in total 180 measurements) in period from April 1<sup>st</sup> to May 25<sup>th</sup>, when weather conditions were favorable for collecting. The pollen traps were emptied every day when pollen was collected. The pollen samples were weighed after each collection using the Mettler-Toledo JL 602-G/L digital scale (range 0.1 mg – 220 g).

### Statistical analysis

Pollen load mass and colony traits (number of cells with bees, brood, pollen and honey) were analyzed using the SAS general linear model procedure (PROC GLM, SAS Institute 2012). Post hoc comparisons of means were made using Bonferroni test.

## Results and discussion

The amount of bee pollen (g/day) collected in studied period is presented in Table 1. Comparing the amount of pollen collected in relation to the collection period, the range was between 0.00 g and 178.40 g in April, and 1.62 g and 183.27 g in May. When comparing the average amount of collected pollen in April (89.49 g) and May (80.82 g), no significant difference was found ( $p=0.2289$ ) and it can be concluded that the bees had sufficient amounts of pollen during both investigated months.

Table 1. Descriptive statistic of average amount of bee pollen (g/day) collected in April and May

Month	N	$\bar{x}$	SD	Min.-Max.
April	109	89.49 <sup>a</sup>	48.04	0.00–178.40
May	71	80.82 <sup>a</sup>	45.70	1.62–183.27

\*a - means with the same letter are not significantly different at  $p<0.05$

The type of bee pollen trap may have a significant impact on the development of the colonies during the season. Many authors reported a close relationship of the adult population and brood area increase to the amount of collected pollen, particularly in the spring period (Dreller and Tarpy, 2000, Calderone et al., 2002). Collecting bee pollen with pollen traps stimulates the productivity of a colony causing increased daily accumulation of pollen. However, the results presented in Table 2 revealed a significant difference ( $p<0.0001$ ) in the amount of pollen collected in relation to the type of pollen trap. An average of 70.77 g of bee pollen was determined in front-mounted pollen traps, ranging from 0.00 g to 172.41 g, and 101.37 g in bottom-mounted traps, ranging from 0.00 g to 183.27 g, respectively. According to Dimou et al. (2006) and Kieliszek et al. (2018) the amount of the collected pollen can be from 50 to 250 g per day, which is consistent with the results obtained in this study. The larger average amount of collected pollen in bottom-mounted traps can be attributed to a different construction of the trap, i.e. a larger collection area. Also, it was observed in the front of the hives with front-mounted traps that one part of the returning foragers drift into other hives due to the crowded hive entrance in days when the weather conditions are favorable for collecting pollen. Crailsheim and Schmickl (2001) report that few days with rainy or windy weather can almost empty the hive's pollen stores. Honey bees never collect large amounts of pollen reserves as it is the case with honey. Thus, the continuous need for pollen force bees to more frequent gathering. However, pollen deficiency can also have negative effects on the vitality and productivity of honey bee colony.

Table 2. Descriptive statistic of average amount of collected bee pollen (g/day) depending on the type of pollen trap

Type of pollen trap	N	$\bar{x}$	SD	Min.-Max.
Front-mounted	90	70.77 <sup>a</sup>	46.30	0.00–183.27
Bottom-mounted	90	101.37 <sup>b</sup>	43.15	0.00–172.41

\*a, b – means with the same letter are not significantly different at  $p<0.05$

Based on the monitored parameters, it was found that the number of bees between the control and test colonies considering the type of pollen trap did not differ significantly ( $p=0.1492$ ), same as in the number of brood cells ( $p=0.0608$ ). Furthermore, no significant differences between test and control colonies (Table 3) were found neither in the number of honey cells ( $p=0.1143$ ) nor in the number of cells with pollen ( $p=0.8066$ ). Although the differences in brood development in colonies with different types of pollen traps are not statistically

significant, a smaller number of brood cells was observed in the colonies with bottom-mounted pollen trap (28500) than those with front mounted traps(37150), which indicates a weakened development of honey bee colonies when bottom-mounted pollen trap is applied. Comparing the differences in the number of brood cells and the number of pollen cells between the groups, it can be assumed that different construction of the pollen trap might cause weaker brood development. Further, the continuous collection throughout the active season has a negative impact, which is confirmed by numerous studies (Crailsheim and Schmickl, 2001, Funari et al., 2003, Hoover and Ovinge, 2018) especially during the dry summer period when pollen is less available in nature. Intensive and long-term bee pollen trapping can also have negative impact on the honey production, although such effect was not observed in this study. Contrary, Lau et al. (2019) in their study conclude that pollen collecting in the spring, with abundance of blooming flowers in nature, does not have a negative impact on honey bee colony development. However, this is highly dependent on the geographical and climate location of the apiary and the available flora to the honey bees. Furthermore, a weather conditions such as low air temperature, precipitation or wind also have a strong influence on honey bee pollen gathering.

Table 3. Descriptive statistics of the average number of bees, brood cells, honey and pollen cells in relation to the type of pollen trap

Colonies	Parameter	$\bar{x}$	SD	Min.-Max.
Control	Adult bees	23508 <sup>a</sup>	3839.59	16770-28080
	Brood cells	35200 <sup>a</sup>	9298.29	16800-49600
	Honey cells	23983 <sup>a</sup>	11475.97	2400-34800
	Pollen cells	7050 <sup>a</sup>	2312.22	4000-10400
Front-mounted	Adult bees	22152 <sup>a</sup>	4425.21	14430-29900
	Brood cells	37153 <sup>a</sup>	7004.83	25200-47600
	Honey cells	22033 <sup>a</sup>	13920.77	0-45600
	Pollen cells	7366 <sup>a</sup>	4105.72	800-12800
Bottom-mounted	Adult bees	20168 <sup>a</sup>	4006.31	13650-27690
	Brood cells	28500 <sup>a</sup>	10365.15	4800-39200
	Honey cells	32883 <sup>a</sup>	13930.07	16800-64000
	Pollen cells	6500 <sup>a</sup>	3131.66	2800-14000

\*a - means with the same letter are not significantly different at  $P < 0.05$

## Conclusions

The effect of pollen trap type on the amount of collected bee pollen and the development of honey bee colonies has been presented in this study. Comparing the average amount of collected pollen in April (89.49 g) and May (80.82 g), no significant difference was found ( $p=0.2289$ ). A significant difference ( $p < 0.0001$ ) was found between the amount of collected bee pollen using front-mounted pollen traps (70.77 g/day) in relation to the bottom-mounted traps (101.37 g/day). Depending on the type of pollen trap no significant differences were found in the number of bees ( $p=0.1492$ ), cells with honey ( $p=0.1143$ ), nor in the pollen ( $p=0.8066$ ) or brood cells ( $p=0.0608$ ). Pollen collection using pollen traps may have a negative impact on the colony development, however, this effect is not always observed, especially when pollen traps are placed for a shorter period of time and/or are used in discontinuation. Therefore, it would be advisable to investigate the influence of the pollen trap type on the investigated parameters during the entire active beekeeping season at different geographical and climate locations.



## Acknowledgement

The results presented in the study are an output from research project fundated by Paying Agency in Agriculture, Fisheries and Rural Development.

## References

- Avni D., Hendriksma H. P., Dag A., Uni Z., Shafir S. (2014). Nutritional aspects of honey bee-collected pollen and constraints on colony development in the eastern Mediterranean. *Journal of Insect Physiology*. 69: 65–73.
- Bogdanov S. (2011). Pollen: Nutrition, Functional Properties, Health. *The Pollen Book*, Chapter 2.
- Campos M. G. R., Frigerio C., Lopes J., Bogdanov S. (2010). What is the future of Bee-Pollen? *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*. 2(4): 131-144.
- Cralshiem, C., Schmickl, T. (2001) Cannibalism and early capping: strategy of honeybee colonies in times of experimental pollen shortages. *Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 187(7), 541–547.
- Dainat B., Dietemann V., Imdorf A., Charrière J. D. (2020). A scientific note on the ‘Liebefeld Method’ to estimate honey bee colony strength: its history, use, and translation. *Apidologie*. 51: 422-427.
- Dimou M., Thrasylvoulou A., Tsirakoglou V. (2006). Efficient use of pollen traps to determine the pollen flora used by honey bees. *Journal of Apicultural Research* 45(1): 42–46.
- Dogterom M., Markl W. (1999). Pollen storage and foraging by honey bees (Hymenoptera: Apidae) in highbush blueberries (*Ericaceae*), cultivar bluecrop. *Canadian Entomologist*. 131: 757–768.
- Donaldson-Matasci M., De Grandi-Hoffman G., Dornhaus A. (2013). Bigger is better: honeybee colonies as distributed information-gathering systems. *Animal Behaviour*. 85(3): 585–592.
- Dreller C., Tarpay D. (2000). Perception of the pollen need by foragers in a honeybee colony. *Animal Behaviour*. 59(1): 91-96.
- Funari S. R. C., Rocha H. C., Sforcin J. M., Curi P. R., Funari A. R. M., Orsi O. R. (2003) Effects of pollen collection on colony development and in the bromatological composition *Apis mellifera* L. pupae. (*Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal*. 11(2): 80-86.
- Gemeda T. K., Li J., Luo S., Yang H., Jin T., Huang J. (2018). Pollen trapping and sugar syrup feeding of honey bee (Hymenoptera: Apidae) enhance pollen collection of less preferred flowers. *PLoS ONE* 13(9).
- Hoover S. E., Ovinge L. P. (2018). Pollen Collection, Honey Production, and Pollination Services: Managing Honey Bees in an Agricultural Setting. *Journal of Economic Entomology*. 111(4): 1509–1516.
- Imdorf A., Gerig L. (2001). Course in determination of colony strength. Swiss bee research centre. Bern.
- Keller I., Fluri P., Imdorf A. (2005). Pollen nutrition and colony development in honey bees—Part II. *Bee World*. 86(2): 27-34.
- Kieliszek M., Piwowarek K., Kot A. M., Błażej S., Chlebowska-Śmigiel A., Wolska I. (2018). Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 7: 170-180.
- Lau P., Bryant V., Ellis J. D., Huang Z. Y., Sullivan J., Schmechl D. R., Cabrera R. A., Rangel J. (2019). Seasonal variation of pollen collected by honey bees (*Apis mellifera*) in developed areas across four regions in the United States. *PLoS ONE* 14(6).
- SAS Institute Inc. 2012. *The SAS System for Windows*. Version 9.4. Cary, NC. SAS Institute
- Zuluaga C. M., Serratob J. C., Quicazana M. C. (2015). Chemical, Nutritional and Bioactive Characterization of Colombian Bee-Bread. *Chemical engineering*, 43:175-180.

## Horizon scanning of potentially invasive non-native fish species for Croatia and Slovenia

Tena Radočaj<sup>1</sup>, Lorenzo Vilizzi<sup>2</sup>, Ivan Špelić<sup>1</sup>, Meta Povž<sup>3</sup>, Marina Piria<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Agriculture University of Zagreb, Department of Fisheries, Apiculture, Wildlife Management and Special Zoology, Zagreb, Croatia (email: tradocaj@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Department of Ecology and Vertebrate Zoology, Faculty of Biology & Environmental Protection, University of Lodz, Lodz, Poland*

<sup>3</sup>*Zavod Umbra, U. B. Učakar 108, Ljubljana, Slovenia*

### Abstract

Invasive non-native species (NNS) represent one of the main threats to the biodiversity of ecosystem worldwide. Horizon scanning is an important component of NNS management to determine future potential threats. The aim of this study was to assess potentially invasive NNS likely to enter Croatia and Slovenia in the near future. Using a horizon scanning tool, 25 fish species in total were identified. The present assessment provides important information for future NNS management strategy in Croatia and Slovenia to preserve native biodiversity.

**Key words:** freshwater, horizon scanning, invasive non-native species, biodiversity, impact

### Introduction

Invasive non-native species (NNS) pose one of the greatest threats to ecosystem services and biodiversity worldwide (Roy et al., 2014, Peyton et al., 2019, Lucy et al., 2020), and represent one of the main stressors for freshwater ecosystems along with degradation, human-induced habitat loss, and pollution (Piria et al., 2018; Emery-Butcher et al., 2020). There are currently more than 14,000 NNS recorded in Europe (Roy et al., 2019, EASIN, 2020). For this reason, understanding future impacts of biological invasions is a crucial issue (Essl et al., 2020). According to Essl et al. (2020), the most important drivers of NNS impacts on freshwater ecosystems until 2050 are: trade and transport, climate change, demography and migration, socio-economy, eutrophication, and pollution.

A horizon scanning approach can be defined as a systematic examination of the potential threats and opportunities within any given context that stands at the basis of current thinking and planning (Roy et al., 2019). Horizon scanning may explore novel and unexpected issues, persistent problems and trends (Amanatidou et al., 2012), and may be applied to several research areas including biodiversity conservation and the identification of potentially invasive NNS that are not yet established within some geographic area (Roy et al., 2015, Copp et al., 2007). Also, horizon scanning is important for NNS management (Copp et al., 2007) as it can provide a substantial amount information to help identify pathways of introduction as well as prioritise preventative measures (Roy et al., 2015).

Croatia and Slovenia share the drainage basin of the River Danube and the Adriatic basin, and both countries are rich in ichthyofauna and endemic fish species (Piria et al., 2016), which are threatened by introduced and translocated species (Pofuk et al., 2017, Piria et al., 2018). To date, in freshwaters of Croatia 30 introduced alien fish species have been identified (Piria et al., 2018, Čaleta et al., 2019), and in inland waters of Slovenia, 24 alien fish species have been recorded so far (Povž 2017, Povž et al., 2018, Piria et al., 2018). However, several

new species are located near the borders of these two countries and their introduction is expected soon (Povž et al., 2018). The aim of this study was to compile a list of non-native freshwater fish species likely to enter both Croatia and Slovenia with the help of a horizon scanning decision-support tool. It is anticipated that the resulting list will help decision makers to prioritise the management of future potential invasions.

## Materials and methods

The Horizon Scanning Tool developed by the Centre for Agriculture and Bioscience International Invasive Species Compendium (CABI, 2020) was used for compiling a list of horizon species for Croatia and Slovenia. The CABI Horizon Scanning Tool is a decision-support tool used for the identification and categorisation of species that might enter a particular geographic area from another geographic area (CABI, 2020). Horizon scanning uses CABI data tables and creates a list of species inhabiting areas of similar climatic conditions or already present in a neighbouring country (CABI, 2020). The resulting datasheets contain information about means of entry, requirements for establishment and spread, impact, as well as methods for prevention and control. Two versions of the Horizon Scanning Tool have been developed: the Crop Protection Compendium and the Invasive Species Compendium (ISC) (CABI, 2020). In this study, the ISC framework was applied to create a list of horizon NNS for Croatia and Slovenia. Information on pathways of introduction and ecological impacts was collected using the following additional databases: (i) FishBase (Froese and Pauly, 2020); (ii) Global Invasive Species Database (GISD, 2020); and (iii) Invasive Species of Japan database (ISJD, 2020). Available scientific literature was also used in support.

## Results and discussion

The resulting list of horizon NNS for Croatia and Slovenia included 25 top species (Table 1). Nineteen of these species possessing invasive characteristics were found in at least one of the databases consulted. For the remaining six species, evidence for invasiveness was not found in any of the databases used for data collection. Also, lake charr *Salvelinus umbla* represents a horizon species only for Croatia, and the North African catfish × African catfish hybrid *Clarias gariepinus* × *Heterobranchus bidorsalis* only for Slovenia. The latter species has been recorded in Croatia probably as an escapee from a fishpond in Hungary but its establishment success remains unknown.

For eighteen species, the main adverse (potential) impacts on native species were found to be predation and competition, and twelve species are likely to represent potential pests and pose threats to human health (Table 1). For horizon species such as snakehead *Channa argus*, Indonesian snakehead *Channa micropeltes* and channel catfish *Ictalurus punctatus*, five to six possible pathways of dispersal were identified, and these represent the largest number of pathways in comparison to the other scanned species (Table 1). Based on the present findings, aquaculture was found to be the most important pathway for fourteen species, and pet trade, angling and intentional release were the most common pathways of dispersal after aquaculture. The largest number of species in the list are invasive and likely to exert adverse impacts on the freshwater ichthyofauna of Croatia and Slovenia.

Because of several vectors and pathways of introduction and due to their biology and ecology, it is predicted that *Channa argus* and western mosquitofish *Gambusia affinis* could become within the next 10 years species at high risk of establishment and spread as well as one of the highest threat to biodiversity in Europe (Roy et al., 2015). *Gambusia affinis* belongs to one of the 100 worst invasive alien species in the world due its adverse impacts

on food webs and predatory affinity on fish eggs (Roy et al., 2015). *Channa argus* is the most important aquaculture species in China and a popular aquarium fish in Europe (CABI, 2020), exerts adverse impacts on food webs, and also represents a vector of disease (Roy et al., 2015). Invasive species such as *Ictalurus punctatus* have been introduced in Europe, but there is still not enough information about this species' ecology and adverse impacts (Haubrock et al., 2018). The nearest area where a well-established population of *I. punctatus* was found is in the River Arno in Central Italy, with documented impacts pending further research (Haubrock et al., 2018). As similar climatic conditions prevail in Croatia and Slovenia, there is increasing attention for this species' introduction in aquaculture (Piria et al., 2018; M. Piria, pers. obs.), hence it is only a matter of time before it will appear in these countries' inland waters. *Ictalurus punctatus* is therefore a good example that highlights the horizon scanning importance for NNS management in view of preventative measures of control (Copp et al., 2007, Roy et al., 2015, Lucy et al., 2020).

**Table 1.** Top 25 species assessed through horizon scanning for Croatia and Slovenia, with indication of their adverse impacts on native species and possible pathways of introduction. Status: I = invasive; N = non-invasive. Impact: Pred = predation; Comp = competition; DT = disease transmission; Hybr = hybridisation; Disr = disruption of food webs; Thr = threat to human health. Pathways: Aqua = aquaculture; Pet = pet trade; Rel = intentional release; BC = biological control; Angl = angling; Food = live food or feed trade; Stock = stocking; Water = natural dispersal; flooding; Esc = escape). \*Horizon species only for Croatia; \*\*horizon species only for Slovenia.

	Status s	Impact							Pathway						
		Pred	Comp	DT	Hybr	Disr	Thr	Aqua	Pet	Rel	BC	Angl	Stock	Water	Esc
<i>Acipenser schrenckii</i>	I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
<i>Amatitlania nigrofasciata</i>	I	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓					
<i>Astronotus ocellatus</i>	I	✓	✓	✓				✓	✓	✓					
<i>Clarias gariepinus</i> × <i>Heterobranchius bidorsalis</i> **	N					✓		✓							
<i>Carassius cuvieri</i>	I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓					
<i>Channa argus</i>	I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Channa micropeltes</i>	N	✓	✓	✓				✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Channa punctata</i>	N														
<i>Coregonus albula</i>	I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Gambusia affinis</i>	I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Hemichromis fasciatus</i>	I	✓						✓							
<i>Hemibarbus labeo</i>	N				✓			✓							
<i>Hemibarbus maculatus</i>	I			✓			✓								✓
<i>Ictalurus punctatus</i>	I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Micropterus dolomieu</i>	I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Odontesthes bonariensis</i>	N				✓			✓							✓
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Oreochromis mossambicus</i>	I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Poecilia reticulata</i>	I	✓	✓	✓				✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Salvelinus namaycush</i>	I	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Salvelinus umbla</i> *	N														
<i>Schilbe mystus</i>	I	✓						✓							
<i>Silurus asotus</i>	I	✓						✓					✓		
<i>Umbra pygmaea</i>	I	✓						✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Xiphophorus helleri</i>	I	✓			✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

## Conclusions

Horizon scanning is an important approach that is being recommended for the development of management strategies for NNS. Using the CABI horizon-scanning tool, information was obtained in this study on vectors and pathways of dispersal and adverse impacts, so that prioritisation of preventative measures can be implemented. Especially important is a coordinated act to prevent or mitigate adverse impacts by potential new NNS. With the help of decision-support tools and available knowledge arising from cooperation between scientists and citizens, the effects of invasions can be prevented or reduced in the effort to protect native biodiversity.

## References

- Amanatidou E., Butter M., Carabias V., Könnölä T., Leis M., ... van Rij V. (2012). On concepts and methods in horizon scanning: Lessons from initiating policy dialogues on emerging issues, *Science and Public Policy*, 39 (2): 208–221.
- CABI (2020). *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CAB International. Available from: [www.cabi.org/isc](http://www.cabi.org/isc).
- Čaleta M., Marčić Z., Buj I., Zanella D., Mustafić P., Duplić A., Horvatić S. (2019). A review of extant Croatian freshwater fish and lampreys - Annotated list and distribution. *Croatian Journal of Fisheries*, 77 (3): 137–234.
- Copp G.H., Templeton M., Gozlan R E. (2007). Propagule pressure and the invasion risks of non-native freshwater fishes in Europe: a case study of England. *Journal of Fish Biology*, 71: 148–159.
- EASIN (2020): European Commission - Joint Research Centre - European Alien Species Information Network. Available from: <https://easin.jrc.ec.europa.eu/>.
- Emery-Butcher H.E., Beatty S.J., Robson B.J. (2020). The impacts of invasive ecosystem engineers in freshwaters: A review. *Freshwater Biology*, 65 (5): 999–1015.
- Essl F., Lenzner B., Bacher S., Bailey S., Capinha C., Daehler C., ... Roura-Pascua N. (2020). Drivers of future alien species impacts: An expert-based assessment. *Global Change Biology*, 26 (9): 4880–4893.
- Froese R., Pauly D. Editors. (2020). *FishBase*. World Wide Web electronic publication. Available from: <http://www.fishbase.org/>.
- GISD (2020): The Global Invasive Species Database. Version 2015.1. Available from: <http://www.iucngisd.org/gisd/>
- Haubrock P.J., Balzani P., Johovic I., Inghilesi A.F., Nocita A., Tricarico E. (2018). The diet of the alien channel catfish *Ictalurus punctatus* in the River Arno (Central Italy). *Aquatic Invasions*, 13 (4): 575–585.
- ISJD (2020): Invasive Species of Japan database. Available from: [www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/index\\_en.html](http://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/index_en.html)
- Lucy F.E., Davis E., Anderson R., Booy O., Bradley K., ... Trodd W. (2020). Horizon scan of invasive alien species for the island of Ireland. *Management of Biological Invasions*, 11 (2): 155–177.
- National Institute for Environmental Studies NIES. (2014). Invasive species of Japan. Available from: [http://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/index\\_en.html](http://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/index_en.html).
- Peyton J., Martinou A.F., Pescott O.L., Demetriou M., Adriaens T., ... Roy H.E. (2019). Horizon scanning for invasive alien species with the potential to threaten biodiversity and human health on a Mediterranean island. *Biol Invasions* 21 (6): 2107–2125.
- Piria M., Povž M., Vilizzi L., Zanella D., Simonović P., Copp G.H. (2016). Risk screening of non-native freshwater fishes in Croatia and Slovenia using the Fish Invasiveness Screening Kit. *Fisheries Management and Ecology*, 23 (1): 21–31.
- Piria M., Simonović P., Kalogianni E., Vardakas L., Koutsikos N., ... Joy M.K. (2018). Alien freshwater fish species in the Balkans—Vectors and pathways of introduction. *Fish and Fisheries*, 19 (1), 138–169.
- Povž M. (2017). Non-native freshwater fishes in Slovenia. *Acta Zoologica Bulgarica*, 9: 105–110.

- Povž M., Jakšić G., Piria M. (2018). The updated list of the non-native freshwater fishes in Slovenia with note of their potential impact in inland waters. *Pakistan Journal of Zoology*, 13: 01–07.
- Roy H.E., Adriaens T., Aldridge D., Bacher S., Bishop J.D., ... Zenetos A. (2015). Invasive Alien Species-Prioritising prevention efforts through horizon scanning: ENV. B. 2/ETU/2014/0016.
- Roy H.E., Bacher S., Essl F., Adriaens T., Aldridge D.C., ... Rabitsch W. (2019). Developing a list of invasive alien species likely to threaten biodiversity and ecosystems in the European Union. *Global Change Biology*, 25 (3): 1032–1048.
- Roy H.E., Peyton J., Aldridge D.C., Bantock T., Blackburn T.M., ... Walker K.J. (2014). Horizon scanning for invasive alien species with the potential to threaten biodiversity in Great Britain. *Global Change Biology*, 20 (12): 3859-3871.

## **Skeniranje horizonta potencijalno invazivnih stranih vrsta riba za Hrvatsku i Sloveniju**

### **Sažetak**

Invazivne strane vrste (NNS) predstavljaju jednu od glavnih prijetnji biološkoj raznolikosti ekosustava u svijetu. Skeniranje horizonta važna je komponenta upravljanja NNS-om za utvrđivanje budućih potencijalnih prijetnji. Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti potencijalno invazivne NNS koji će vjerojatno ući u Hrvatsku i Sloveniju u bliskoj budućnosti. Pomoću alata za skeniranje horizonta identificirano je ukupno 25 vrsta riba. Ova procjena daje važne informacije za buduću strategiju upravljanja NNS-om u Hrvatskoj i Sloveniji za očuvanje izvorne biološke raznolikosti.

**Ključne riječi:** kopnene vode, skeniranje horizonta, invazivne strane vrste, biološka raznolikost, utjecaj

## Primjena infracrvene spektroskopije u identifikaciji sastavnica pčelinjeg otrova

Lidija Svečnjak, Marko Levanić, Jelena Horvatinec, Marko Vinceković, Irina Tanuwidjaja, Mirna Mrkonjić Fuka

Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska  
(e-mail: lsvecnjak@agr.hr)

### Sažetak

Cilj ovog rada bio je provesti kemijsku karakterizaciju i identifikaciju sastavnica pčelinjeg otrova metodom infracrvene (FTIR) spektroskopije. Uzorci pčelinjeg otrova prikupljeni su iz 2 pokusne pčelinje zajednice izravno iz žalca radilica različite dobi stimulacijom pomoću mikrokapilara (pojedinačni uzorci) te metodom elektrostimulacije pčela (skupni uzorci). Rezultati su pokazali kako pčelinji otrov daje karakterističan IR spektralni profil u kojem dominiraju apsorpcijske vrpce proteina (enzima) i peptida te kako je kvalitativni sastav otrova postojan tijekom života radilica uz indikaciju kako sa starošću radilica otrov postaje koncentriraniji. Analiza skupnog uzorka potvrdila je jedinstveni FTIR spektralni profil otrova u osušenoj formi.

**Ključne riječi:** medonosna pčela, pčelinji otrov, FTIR-ATR spektroskopija, kemijska karakterizacija, identifikacija sastavnica

### Uvod

Pčelinji otrov (apitoksin) je vrijedan proizvod medonosne pčele (*Apis mellifera* L.) sa širokom primjenom i rastućom potražnjom u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. U sastavu pčelinjeg otrova dominiraju peptidi s melitinom kao najzastupljenijom sastavnicom otrova (čini 40-60 % suhe tvari otrova) i proteini (enzimi) od kojih je najzastupljenija fosfolipaza A2 (10-12 %) (Banks i sur., 1986., Chen i sur., 2016., Carpena i sur., 2020.). Preostale sastavnice pčelinjeg otrova obuhvaćaju manje zastupljene biogene amine, isparljive spojeve, aminokiseline, minerale i šećere (Bogdanov, 2017.). Tijekom posljednjeg desetljeća raste potražnja za ovim proizvodom. Sukladno tome tehnologija proizvodnje pčelinjeg otrova metodom elektrostimulacije kontinuirano se unaprjeđuje, ali javlja se i potreba za standardizacijom metoda za utvrđivanje kakvoće i čistoće pčelinjeg otrova. Najprimjenjenija metoda za analizu pčelinjeg otrova je tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *high performance liquid chromatography* - HPLC) kojom se utvrđuje udio melitina kao najvažnije komponente sastava pčelinjeg otrova (Rybak-Chmielewska i Szczęśna, 2004., de Graaf i sur., 2020.), no sve se više primjenjuju i drugi instrumentalni analitički alati koji omogućuju brzu i preciznu analizu pčelinjeg otrova (Park i sur., 2018., Huang i sur., 2020.). Među njima se ističe infracrvena (engl. *infrared* - IR) spektroskopija koja ima primjenu u analitici širokog spektra bioloških uzoraka jer pruža informaciju o ukupnom kemijskom sastavu uzorka i strukturi njegovih sastavnica pri čemu se detektiraju vibracije funkcionalnih skupina molekula u uzorku pa svaka tvar daje karakterističan IR spektar - kemijski „otisak prsta“. Ova je metoda u recentnim istraživanjima polučila dobre rezultate u kemijskoj karakterizaciji otrova različitih životinjskih vrsta, poput otrova škorpiona (Krayem i sur., 2018.) i zmije (Matias i sur., 2017.), a preliminarno je primijenjena i za analizu PLGA čestica na bazi pčelinjeg otrova (Park i sur., 2018.). U dostupnoj znanstvenoj literaturi nema podataka o sastavu pčelinjeg otrova u ovisnosti o dobi radilica, kao niti komparativnog osvrtu na njegov sastav ovisno o formi (tekući, osušeni). Cilj ovog rada bio je provesti kemijsku



karakterizaciju i identifikaciju sastavnica pčelinjeg otrova, pojedinačnih uzoraka u tekućem stanju te skupnih uzoraka osušenog otrova, metodom IR spektroskopije.

## Materijal i metode

### Uzorkovanje pčelinjeg otrova

Iz dvije pokusne pčelinje zajednice (*Apis mellifera* L.) izoliran je po jedan okvir poklopljenog (starijeg) radiličkog pčelinjeg legla. Okviri s leglom smješteni su u inkubator (Heratherm Thermo Scientific) na 34.5 °C kroz 24 sata kako bi se izdvojile mlade pčele jednake dobi (- 1 dan starosti) koje su po izlasku iz stanica u inkubatoru markirane bojom za kukce te vraćene u košnicu. Nakon 7, 14, 24 i 42 dana prikupljene su markirane pčele iz košnica, a uzorci pčelinjeg otrova prikupljeni su izravno iz žalca markiranih radilica različite dobi (7, 14, 24 i 42 dana starosti) stimulacijom žalca pomoću staklenih (10 μL) mikrokapilara (pojedinačni uzorci). Ukupno je prikupljeno 14 pojedinačnih uzoraka apitoksina. Manji broj prikupljenih uzoraka otrova u odnosu na broj markiranih pčela rezultat je otežanog rukovanja živim pčelama i/ili nedostatnom količinom otrova za daljnju spektralnu analizu (< 3 μL). Skupni uzorci pčelinjeg otrova iz dvije pčelinje zajednice (K1, K2) prikupljeni su metodom elektrostimulacije pčela pomoću vanjskog skupljača otrova (12 V) sa staklenom pločom i PE folijom. Prikupljanje otrova izvršeno je u prijepodnevnim satima tijekom srpnja. Prikupljeni uzorci pčelinjeg otrova čuvani su na -18 °C do analize.

### Analiza pčelinjeg otrova metodom FTIR-ATR spektroskopije

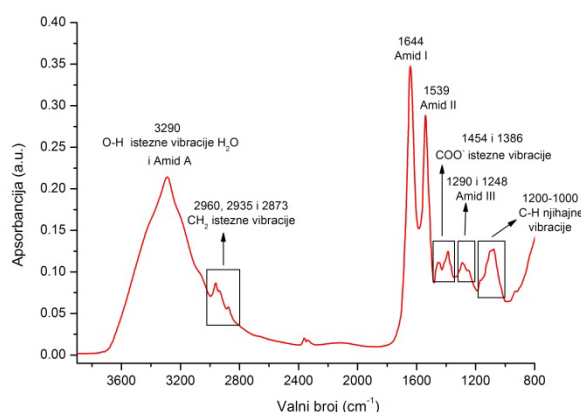
Uzorci apitoksina analizirani su metodom FTIR-ATR spektroskopije, odnosno spektroskopije u srednjem infracrvenom dijelu spektra (spektralno područje: 4000-400 cm<sup>-1</sup>) s Fourierovom transformacijom (Fourier transform infrared spectroscopy - FTIR) i ATR tehnikom snimanja spektara (Attenuated Total Reflectance - prigušena totalna refleksija) koja omogućuje analizu otrova u tekućem i krutom stanju. IR spektri prikupljenih uzoraka pčelinjeg otrova snimljeni su u izvornom stanju koristeći Cary 660 spektrometar (Agilent Technologies) s DTGS (deuterirani triglicin sulfat) detektorom i CsI (cezijev jodid) optikom te jednorefleksijski ATR instrumentlani dodatak s dijamantom kao internim refleksijskim elementom (Specac). Apsorpcijski spektri uzoraka (32 snimaka / uzorku) snimljeni su na sobnoj temperaturi (23 ± 2°C) pri spektralnoj rezoluciji od 4 cm<sup>-1</sup>. Uzorci apitoksina u tekućem stanju analizirani su pomoću ATR poklopca koji sprječava isparavanje vode iz uzorka, dok je skupni uzorak otrova u krutom stanju analiziran pomoću ATR dodatka sa safirnim kristalom koji omogućuje formiranje tankog uniformnog sloja uzorka. Analiza i obrada spektralnih podataka provedena je pomoću specijaliziranih softverskih paketa Resolutions Pro (Agilent Technologies) i Origin 8.1. (OriginLab, version 8.1), a asignacija apsorpcijskih vrpca odgovarajućim funkcionalnim skupinama molekula provedena je temeljem podataka iz dostupne znanstvene literature, spektralnih zbirki i atlasa.

## Rezultati i rasprava

### Asignacija apsorpcijskih vrpca u IR spektru pčelinjeg otrova

Na Grafikonu 1. prikazan je karakterističan IR spektar tekućeg pčelinjeg otrova dobiven kao srednji spektar svih analiziranih pojedinačnih uzoraka otrova radilica različite dobi (n=14) u kojem je naznačena temeljna asignacija apsorpcijskih vrpca pripadajućim vibracijama funkcionalnih skupina molekula prisutnih u pčelinjem otrovu. Široka intenzivna vrpca s apsorpcijskim maksimumom na 3290 cm<sup>-1</sup> pripisana je O–H isteznim vibracijama vode, ali je indikativna i za N–H istezne vibracije (amid A vrpca) vezana za sekundarnu strukturu proteina i peptida (Kong and Yu, 2007., Socrates, 2001.) te se signali vode i proteinskih/peptidnih sastavnica otrova u ovom spektralnom području preklapaju

(spomenuta vrpca vode dominira). Sljedeća grupa apsorpcija na 2960, 2935 i 2873  $\text{cm}^{-1}$  pripada asimetričnim i simetričnim  $\text{CH}_2$  isteznim vibracijama. Spektralno područje od 1700 do 800  $\text{cm}^{-1}$  predstavlja najsloženiji dio spektra pčelinjeg otrova s brojnim apsorpcijskim vrpca povezanim sa sekundarnom strukturom proteinskih i peptidnih frakcija pčelinjeg voska. Najintenzivnija vrpca u tom području nalazi na 1644  $\text{cm}^{-1}$  i označava  $\text{C}=\text{O}$  istezne vibracije (amid I vrpca); ovo je područje također karakteristično za  $\text{H}-\text{O}-\text{H}$  deformacijske vibracije vode (na 1645  $\text{cm}^{-1}$ ) i spomenute se vrpce u ovoj spektralnoj regiji također preklapaju. Vibracija s apsorpcijskim maksimumom na 1539  $\text{cm}^{-1}$  pripada  $\text{N}-\text{H}$  deformacijskim vibracijama i  $\text{C}-\text{N}$  isteznim vibracijama (amid II vrpca), dok apsorpcije na 1454 i 1407  $\text{cm}^{-1}$  odražavaju  $\text{COO}^-$  istezne vibracije bočnih lanaca proteina (Socrates, 2001.). Dvije susjedne vrpce slabijeg intenziteta na 1290 i 1247  $\text{cm}^{-1}$  mogu se pripisati tipičnoj amid III vrpca koja je primarno posljedica  $\text{C}-\text{N}$  isteznih i  $\text{N}-\text{H}$  deformacijskih vibracija koje se primarno pripisuju peptidima. Sve vrpce amid kompleksa (amid I, II i III) proizlaze iz visokog udjela organskih spojeva s dušikom, odnosno proteina (enzima), peptida i biogenih amina u pčelinjem otrovu. Navedeno je također u skladu s rezultatima Park i sur. (2018.) koji amid vrpce uočene u spektru otrova u spektralnom području 1700-1600  $\text{cm}^{-1}$  i 1550-1500  $\text{cm}^{-1}$  ističu kao signale jedinstvene za proteinsku sekundarnu strukturu. Serija apsorpcijskih vrpca srednjeg intenziteta u području između 1200 i 1000  $\text{cm}^{-1}$  (na 1170, 1125, 1103 i 1078  $\text{cm}^{-1}$ ) asignirane su  $\text{C}-\text{H}$  izvanravnijskim njihovim vibracijama različitih aromatskih struktura organskih spojeva u pčelinjem otrovu.



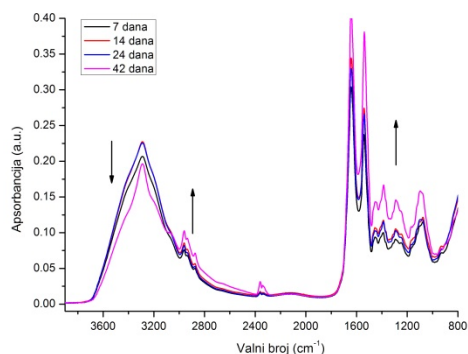
Grafikon 1. Karakterističan FTIR-ATR spektar pčelinjeg otrova prikupljenog izravno iz žalca radilica s asignacijom temeljnih apsorpcijskih vrpca (srednji spektar;  $n=14$ )

Rezultati spektralne analize su pokazali kako pčelinji otrov daje karakterističan FTIR-ATR spektralni profil u kojem dominiraju apsorpcijske vrpce proteina (enzima) i peptida. Kemijska karakterizacija pčelinjeg otrova FTIR-ATR spektroskopijom pokazala je spektralne sličnosti s otrovom drugih životinjskih vrsta, kao što je otrov škorpiona (Krayem i sur. 2018.) i zmije (Matias i sur. 2017.). Sva tri otrova dijele karakteristične vrpce u spektralnom području između 1700 i 800  $\text{cm}^{-1}$  što potvrđuje sličnost u osnovnom kemijskom sastavu s visokim udjelom proteinskih komponenti sastava.

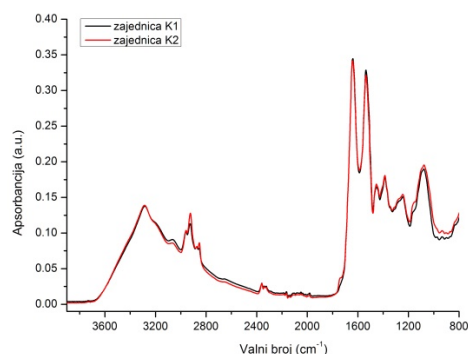
#### *Komparativna spektralna analiza pojedinačnih i skupnih uzoraka pčelinjeg otrova*

Na Grafikonu 2. prikazani su srednji IR spektri otrova radilica različite dobi (7 dana:  $n=5$ ; 14 dana:  $n=4$ ; 24 dana:  $n=4$ ; 42 dana:  $n=1$ ). Temeljem spektralnih značajki prikazanih na Grafikonu 2. razvidno je da ne postoje značajne razlike u kvalitativnom sastavu pčelinjeg otrova između radilica različite dobi. Analizom je utvrđen istoznačan integralni spektralni profil (obzirom na položaj apsorpcijskih vrpca) analiziranih pojedinačnih uzoraka otrova

radilica različitih dobnih skupina što ukazuje na ujednačeno izlučivanje svih sastavnica apitoksina tijekom života pčele, odnosno postojanost njegovog kvalitativnog sastava. Neznatne spektralne varijacije uočene u analiziranim uzorcima otrova različitih dobnih skupina pčela odražavaju razlike u odnosu vode i proteinske/peptidne frakcije otrova; u otrovu starijih pčela uočen je niži intenzitet signala vezanih za funkcionalne skupine vode u spektralnom području od 3700 do 3100  $\text{cm}^{-1}$  naspram višeg intenziteta signala proteinskih i peptidnih frakcija otrova između 1700 i 1000  $\text{cm}^{-1}$  te 3800 i 2850  $\text{cm}^{-1}$ . Ovaj obrnuto proporcionalan odnos signala voda:proteinska/peptidna frakcija indicira kako otrov sa starošću pčele postaje koncentriraniji što se posebice ističe komparativnim osvrtom na spektralne značajke otrova najstarijih radilica (42 dana starosti) u odnosu na najmlađe (7 dana). Spektralnom analizom nisu uočene zamjetne razlike između spektara otrova radilica iste dobi iz različitih zajednica (rezultati nisu prikazani). Iz Grafikona 3. koji prikazuje srednje spektre skupnih uzorka osušenog pčelinjeg otrova (zasićene forme otrova) prikupljenih metodom elektrostimulacije pčela ( $n=2$ ) vidljivo je kako su proteinske / peptidne komponente sastava otrova (najistaknutije u spektralnom području od 1700 do 1000  $\text{cm}^{-1}$  i od 3800 do 2850  $\text{cm}^{-1}$ ) zastupljenije u odnosu na njihov udio u izvornom tekućem otrovu radilica, što je posljedica evaporacije vode iz otrova.



Grafikon 2. Srednji FTIR-ATR spektri pojedinačnih uzoraka pčelinjeg otrova prikupljenih iz žalca radilica različite dobi



Grafikon 3. Srednji FTIR-ATR spektri skupnih uzoraka osušenog pčelinjeg otrova prikupljenog iz 2 pčelinje zajednice

## Zaključak

Rezultati su pokazali kako pčelinji otrov daje karakterističan IR spektralni profil u kojem dominiraju apsorpcijske vrpce proteina (enzima) i peptida te kako je kvalitativni sastav otrova postojan tijekom života radilica, ali sa starošću radilica otrov postaje koncentriraniji. Analiza skupnog uzorka potvrdila je jedinstveni FTIR spektralni profil otrova u osušenoj formi. Preliminarni rezultati ukazuju na mogućnost primjene FTIR-ATR spektroskopije kao brze i jednostavne metode za analizu ukupnog kemijskog sastava pčelinjeg otrova te potvrdu njegove autentičnosti.

## Napomena

Istraživanja neophodna za ovaj rad dio su projekta „*miCRObee*“ kojeg financira Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju.

## Literatura

- Banks B., Shipolini R. (1986). Chemistry and pharmacology of honey-bee venom. In *Venoms of the Hymenoptera*. Piek, T. (eds.), 330-416. London; UK: Academic Press.
- Bogdanov S. (2017). Bee venom: Production, composition, quality. In *The bee venom book, Chapter 1. Bee product science*. Available from: <https://www.bee-hexagon.net/english/bee-products/downloads-venom-book/>
- Carpena M., Nuñez-Estevez B., Soria-Lopez A, Simal-Gandara J. (2020). Bee Venom: An Updating Review of Its Bioactive Molecules and Its Health Applications. *Nutrients*. 12, 3360: 1-27.
- Chen J., Guan S.M., Sun W., Fu H. (2016). Melittin, the Major Pain-Producing Substance of Bee Venom. *Neuroscience Bulletin*. 32 (3): 265-272.
- de Graaf, D. C., Brochetto Braga, M. R. B., Magalhães de Abreu, R.M., Blank, S., Bridts, C. H., De Clerck, L. S., Devreese, B., Ebo, D.G., Ferris, T. J., Hagendorens, M. M., Justo Jacomini, D. L. J., Kanchev, I., Kokot, Z. K., Matysiak, J., Mertens, C., Sabato, V., Van Gasse, A. L., Van Vaerenbergh, M. (2020). Standard methods for *Apis mellifera* venom research. *Journal of Apicultural Research*.
- Huang S., Wang J., Guo Z., Wang Y., Liu C. (2020). Quantitative Measurement of Melittin in Asian Honeybee Venom Using a New Method Including UPLC-QqTOF-MS. *Toxins* 12, 437: 1-12.
- Krayem N., Parsieglá G., Gaussier H., Louati H., Jallouli R., Mansuelle P., Carrière F., Gargouri Y. (2018). Functional characterization and FTIR-based 3D modeling of full length and truncated forms of *Scorpio maurus* venom phospholipase A2. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1862(5): 1247-1261.
- Kong J., Shaoning Y. (2007) Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 39 (8): 549-559.
- Matias M. S., de Sousa B. B., da Cunha Pereira D. F., Dias E. H. V., Mamede C. C. N., de Queiroz M. R., Silva A. C. A., Dantas N. O., Soares A. M., de Oliveira Costa J., de Oliveira F. (2017). BaltDC: purification, characterization and infrared spectroscopy of an antiplatelet DC protein isolated from *Bothrops alternatus* snake venom. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 23: 36.
- Park M.-H., Jun H.-S., Jeon J.-W., Park J.-K., Lee B.-J., Suh G.-H., Park J.-S., Cho C.-W. (2018). Preparation and characterization of bee venom-loaded PLGA particles for sustained release. *Pharmaceutical Development and Technology*. 23(9): 857-864.
- Rybak-Chmielewska H., Szczęśna T. (2004). HPLC study of chemical composition of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom. *Journal of Apicultural Science*. 48(2): 103-109.
- Socrates G. (2001). Infrared and Raman characteristic group frequencies tables and charts. New York; USA: Wiley.

## Application of infrared spectroscopy in the identification of bee venom constituents

### Abstract

The aim of this study was to perform a chemical characterization and identification of honey bee venom constituents using infrared (FTIR) spectroscopy. Samples of bee venom were collected from 2 experimental honey bee colonies directly from the sting of the worker bees of different age by stimulation with microcapillaries (individual samples), and by electric stimulation (pooled samples). The results have revealed that bee venom provides a characteristic FTIR spectral features dominated by the absorption bands of proteins (enzymes) and peptides, and that qualitative composition of the bee venom is constant during the life span of the workers with an indication of becoming more concentrated by honey bee aging. Analysis of a pooled venom sample confirmed the unique FTIR spectral profile of dried bee venom.

**Key words:** honey bee, bee venom, FTIR-ATR spectroscopy, chemical characterization, identification of constituents

## Stress characterization of ichthyofauna in natural lowland streams and artificially created waterbodies

Ivan Špelić<sup>1</sup>, Petra Štefanac Šporčić<sup>1</sup>, Tena Radočaj<sup>1</sup>, Ana Gavrilović<sup>1</sup>, Marina Piria<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska*

### Abstract

Streams and canals near Crna mlaka fish farm in continental Croatia were sampled by electrofishing. Three sampling sites were located on natural streams and two on artificial canals. ABC method was used to determine stress in fish community at each location. During the research, seventeen native and four alien species of fish were recorded. ABC index showed moderate stress for all analysed ichthyocenosis at each location. However, natural streams distant from the fish farm seemingly still provide suitable habitat, supporting populations of endemic fish species and native species less resistant to inadequate environmental conditions, while artificial canals and natural stream near the fish farm are dominated by invasive fish species.

**Key words:** fish community, stress, altered habitat, invasive species

### Introduction

Flow modification, degradation of habitats and introduction of alien species have been recognized as one of the major threats to freshwater biodiversity (Dudgeon et al., 2006).

Modified ecosystems are often characterized by impoverished indigenous fauna and usually dominated by invasive alien species (Clavero et al., 2013). Artificial canals represent good example of modified ecosystems which are characterized by low heterogeneity, reduced diversity and abundance of fish assemblages (Madejczyk et al., 1998). It has been demonstrated that abundance biomass comparison (ABC) method is applicable to the assessment of disturbance in fish communities in rivers, and that the method gives information about both, pollution and physical disturbance (Coeck et al., 1993). Also, absence of predatory fish species and prevalence of small size fish with short life span characterize ichthyocenosis under stress (Treer and Piria, 2019). Therefore, the aim of this research was to determine the differences in species composition and the stress character of fish community in artificial canals near aquaculture facilities, and natural lowland streams located in their vicinity.

### Materials and methods

Sampling was conducted on five sampling sites at four water bodies in the vicinity of Crna Mlaka fish farm (Zagreb and Karlovac Counties) in continental Croatia (Figure 1). Two natural stream sampling sites are located further upstream from the fish farm: Brebernica and Okićnica confluence with Gonjava (further: Okićnica confluence). Both streams are partially embanked and there are roads nearby. Additional site on Okićnica stream next to the fish farm (further: Okićnica fish farm) was chosen due to its highly modified banks and channelling at that part. Remaining two sites are located on canals that are constructed for management of water level in fish farm ponds: Crna Mlaka input canal (further: Crna Mlaka) and Ličnik.

Fish were collected by electrofishing, during the period when the water levels were below the annual average (June and July of 2019). Two 100m transects (2x 100 m) were sampled in streams with a distance of at least 500 m between each section. In contrast to the stream, the length of the sampling transects in canals was 300 m during only one sampling per location. At each waterbody, basic physico-chemical parameters were measured with portable multiparameter instrument (SI Analytics HandyLab 680): O<sub>2</sub> %, O<sub>2</sub> mg×L<sup>-1</sup>, water temperature (°C), pH and conductivity (COND). Fish were identified, counted and standard length was measured before release. Total biomass of each fish species was calculated based on average Croatian length weight relationship according to Treer et al. (2008). ABC method proposed by Meire and Dereu (1990) was used to determine fish community stress at each watercourse.

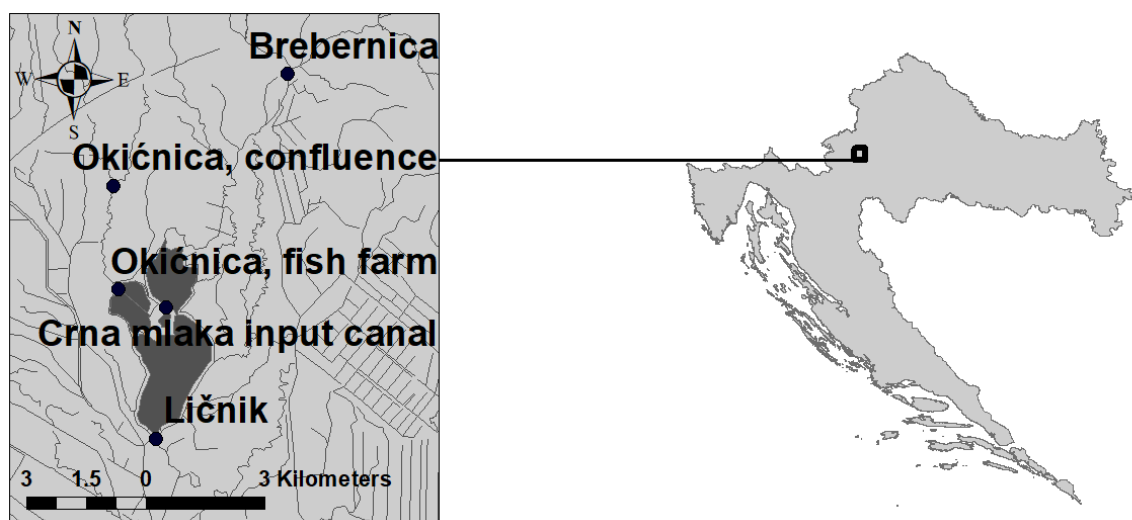


Figure 1. Sampling locations

## Results and discussion

Water parameters differed among sampling sites. Most prominent difference was in the oxygen level, which was much higher in the natural streams (Table 1). During sampling, 21 species of fish were recorded, of which 4 were alien species (gibel carp, *Carassius gibelio*, topmouth gudgeon, *Pseudorasbora parva*, pumpkinseed, *Lepomis gibbosus* and black bullhead, *Ameiurus melas*). Bitterling, *Rhodeus amarus*, and topmouth gudgeon were recorded at all sites. The most numerous species in total were bitterling and gibel carp (Table 2).

Table 1. Water quality parameters at sampling sites (Oxygen = O<sub>2</sub>%, O<sub>2</sub> mg×L<sup>-1</sup>; temp = water temperature (°C), pH and COND=conductivity)

Waterbody	O <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (mg×L <sup>-1</sup> )	temp (°C)	pH	COND
<b>Streams</b>					
Brebernica	101.5	8.5	23.8	7.5	230.0
Okićnica, confluence with Gonjava	60.3	5.2	20.9	7.9	548.0
Okićnica (fish farm)	62.6	5.4	25.1	7.6	511.0
<b>Canals</b>					
Crna mlaka	29.7	2.5	24.8	7.3	410.0
Ličnik	31.0	2.7	22.7	7.2	249.0

Table 2. Recorded fish species at sampling sites (alien species are marked with \*)

Species/Abundance and percentage	Brebernica		Okićnica (confluence)		Okićnica (fish farm)		Crna mlaka		Ličnik	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Spirilin ( <i>Alburnoides bipunctatus</i> )			55	29.9						
Chub ( <i>Squalius cephalus</i> )	46	30.1	14	7.6						
Bleak ( <i>Alburnus alburnus</i> )			17	9.2	39	20.9	7	5.1	28	46.7
Bitterling ( <i>Rhodeus amarus</i> )	46	30.1	44	23.9	8	4.3	5	3.6	1	1.7
Gudgeon ( <i>Gobio obtusirostris</i> )	44	28.8	3	1.6						
Spined loach ( <i>Cobitis elongatioides</i> )					5	2.7				
Carp ( <i>Cyprinus carpio</i> )					2	1.1	3	2.2		
Gibel carp ( <i>Carassius gibelio</i> )*			4	2.2	67	35.8	10	7.2	17	28.3
Freshwater bream ( <i>Abramis brama</i> )					2	1.1				
Rudd ( <i>Scardinius erythrophthalmus</i> )							2	1.4		
Danube barbel ( <i>Barbus balcanicus</i> )	10	6.5								
Stone loach ( <i>Barbatula barbatula</i> )	3	2.0								
Topmouth gudgeon ( <i>Pseudorasbora parva</i> )*	3	2.0	1	0.5	25	13.4	34	24.6	4	6.7
Eurasian minnow ( <i>Phoxinus phoxinus</i> )	1	0.7								
European perch ( <i>Perca fluviatilis</i> )			10	5.4	12	6.4	29	21.0	2	3.3
Pumpkinseed ( <i>Lepomis gibbosus</i> )*			3	1.6	22	11.8	31	22.5	3	5
Roach ( <i>Rutilus rutilus</i> )			2	1.1			16	11.6	5	8.3
Balkan spined loach ( <i>Sabanejewia balcanica</i> )			16	9.0						
Balkan loach ( <i>Cobitis elongata</i> )			3	1.6	1	0.5				
Tench ( <i>Tinca tinca</i> )					1	0.5				
Black bullhead ( <i>Ameiurus melas</i> )*			12	6.5	3	1.6				
Abundance and percentage of alien species	3	2.0	20	10.3	117	62.6	75	54.7	24	40.0
Overall	153	100	184	100	187	100	137	100	60	100

All sampled sites were under similar moderate state of stress (Figure 2, Table 3). Although the stress level is similar in all surveyed locations, it is clear that abundance of alien species is much higher in artificial water bodies and in natural stream (Okićnica) in the immediate vicinity of the fish farm. Aquaculture activities can explain higher relative abundance of some species in adjacent habitats by directly or indirectly providing additional food input (Gürkan & Özdilek 2018), and in this case it is combined with modified habitat in which introduced fish populations thrive (Kennard et al. 2005). Cause of stress in the remaining two natural streams could be pollution, regulation and embankment due to urbanization (Edge et al., 2016). Three endemic species, Danube barbel, *Barbus balcanicus*, Balcan spined loach, *Sabanejewia balcanica*, and Balcan loach, *Cobitis elongata*, together with two native species less resistant to inadequate environmental conditions, Eurasian minnow, *Phoxinus phoxinus*, and stone loach, *Barbatula barbatula* (Wheeler, 1992; Kottelat & Freyhof, 2007), were found only in natural streams, further away from the fish farm,

implying that this stretches of streams are still in acceptable state if they not alter further. Only one endemic species was found in Okićnica near fish farm, spined loach, and none in artificial canals.

Table 3. ABC index for each sampled stream and canal

Waterbody	ABC index	Stress character
Brebernica	0.00	moderate
Okićnica, confluence	-0.05	moderate
Okićnica, fish farm	-0.09	moderate
Crna mlaka input canal	-0.01	moderate
Ličnik	-0.01	moderate

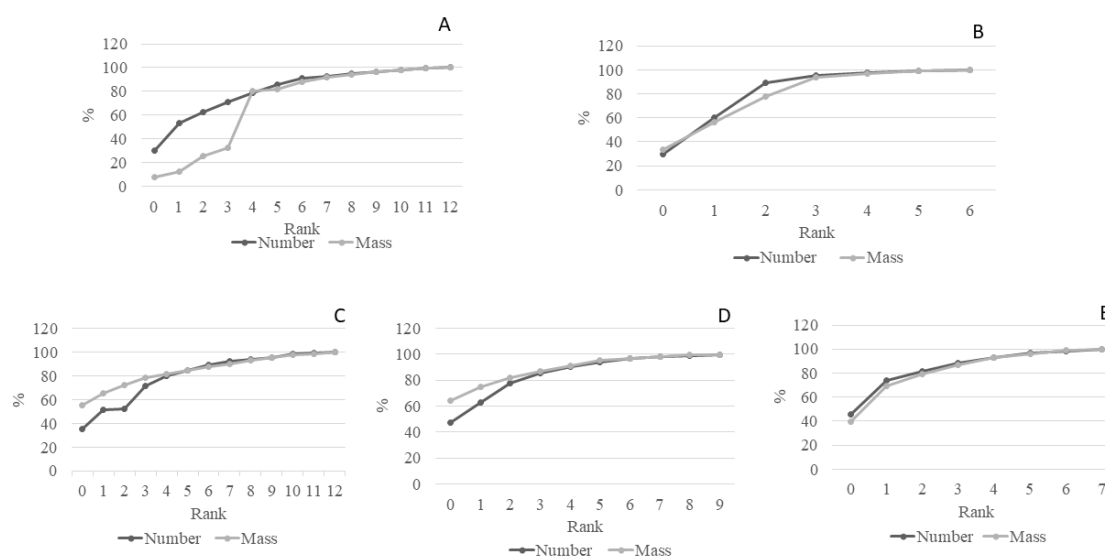


Figure 2. ABC diagrams of sampled streams and canals (A) Okićnica confluence; (B) Brebernica; (C) Okićnica fish farm; (D) Crna mlaka; (E) Ličnik

## Conclusions

Level of fish community stress is moderate in both natural streams and artificial canals near Crna Mlaka fish farm. Possible causes of stress in this habitats differ: natural streams distant from the fish farm are probably impacted by embankment and pollution from nearby roads and settlements; natural stream near to the fish farm is under severe pressure caused by invasive fish species; artificial canals provide reduced habitat heterogeneity which is combined with presence of invasive species. Despite of the stressors, there are still populations of endemic and pollution sensitive species present in natural lowland streams distant from the fish farm. To protect such natural population in threatened lowland running waters and to recover back a healthy fish community, further habitat alteration should be discontinued.

## Acknowledgement

We would like to thank IHOR PARK d.o.o. Crna Mlaka fish farm, and especially its owner Ivan Preolec for support and cooperation during this and all the former research.

This research was a part of „Uspostava nacionalnog sustava za praćenje invazivnih stranih vrsta“ project, managed by Croatian Ministry of Environment and Energy.



## Literature

- Coeck J., Vandellanootte A., Yseboodt R., Verheyen R. F. (1993). Use of the abundance/biomass method for comparison of fish communities in regulated and unregulated lowland rivers in Belgium. *Regulated Rivers: Research & Management*, 8(1-2): 73-82.
- Clavero M., Hermoso V., Aparicio E., Godinho F.N. (2013). Biodiversity in heavily modified waterbodies: native and introduced fish in Iberian reservoirs. *Freshw Biol*, 58: 1190-1201.
- Dudgeon D., Arthington A. H., Gessner M. O., Kawabata Z. I., Knowler D. J., Lévêque C., Sullivan C. A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological reviews*, 81(2): 163-182
- Edge C.B., Fortin M.J., Jackson D.A., Lawrie D., Stanfield L., Shrestha N. (2016). Habitat alteration and habitat fragmentation differentially affect beta diversity of stream fish communities. *Landscape Ecology*, 32: 647-662.
- Gürkan E. S., and Özdilek Y. Ş. (2018). The effects of aquaculture activities on species composition and diversity of native freshwater fish populations. *Aquatic Living Resources*, 31, 17.
- Kennard M. J., Arthington A. H., Pusey B. J., Harch B. D. (2005). Are alien fish a reliable indicator of river health? *Freshwater Biology*, 50(1): 174–193.
- Kottelat M., and Freyhof J. (2007). *Handbook of European freshwater fishes*. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin. 646 pp.
- Madejczyk J.C., Mundahl N.D., Lehtinen R.M. (1998). Fish Assemblages of Natural and Artificial Habitats within the Channel Border of the Upper Mississippi River. *The American Midland Naturalist*, 139(2): 296-310
- Treer T., and Piria M. (2019). *Osnove primijenjene ihtiologije*. Sveučilišni udžbenik, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb, 145p
- Wheeler A. (1992). *Freshwater fishes of Britain and Europe*. Rainbow Books, Elsley House, London. 124 p.

## Karakterizacija stresa ihtiofaune u prirodnim nizinskim vodotocima i umjetno stvorenim vodenim tijelima

### Sažetak

Uzorkovanje elektroribolovom provedeno je na tri lokacije na prirodnim vodotocima i na dvije lokacije na umjetnim kanalima u blizini ribnjaka Crna Mlaka u kontinentalnoj Hrvatskoj. Uz pomoć ABC metode procijenjena je razina stresa zajednica riba na svakoj lokaciji. Ukupno je zabilježeno 17 zavičajnih vrsta i 4 strane vrste riba. ABC indeksi su pokazali stanje umjerenog stresa na svim lokacijama. Međutim, prirodni vodotoci dalje od ribnjaka potencijalno još uvijek predstavljaju odgovarajuće stanište endemskim i osjetljivim zavičajnim vrstama riba, dok na umjetnim kanalima i lokaciji na potoku u blizini ribnjaka dominiraju invazivne vrste riba.

**Ključne riječi:** zajednica riba, stres, izmijenjeno stanište, invazivne vrste

## Potencijali, troškovi i koristi gospodarenja velikim vrancom (*Phalacrocorax carbo sinensis*)

Kristijan Tomljanović<sup>1</sup>, Karlo Beljan<sup>1</sup>, Matija Plantosar<sup>1</sup>, Marijan Grubešić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Veliki vranac jedna je od tri vrste vranaca koji obitavaju na području Republike Hrvatske. U nekim slučajevima kod veće brojnosti može raditi značajne štete na ribljem fondu. Kako bi se utvrdili svi aspekti potencijalnog gospodarenja vrancom zadano istraživanje je išlo u dva smjera. Terenskim pokusima vršeno je prebrojavanje velikog vranca na dvije lokacije gdje se osim apolutne i relativne brojnosti pratila i aktivnost na vodenim površinama. Drugi dio istraživanja obuhvatio je analizu troškova i koristi teorijskog modela gospodarenja u slučaju uvrštavanja vranca na popis divljači. Na dvije lokacije tijekom devet opažanja u vremenskom periodu od 25.02 – 14.04. 2019. god. prosječno je prebrojano 8,8 jedinki +/- 11,65. Analiza troškova i koristi uvrštavanja velikog vranca na popis divljači za teorijsko razdoblje od osam godina pokazala je da bi ukupni troškovi iznosili nešto manje od 400 mil.kn. dok bi prihodi bili tek na 5.7 mil.kn tako da ekonomske opravdanosti lovnog gospodarenja nema.

**Ključne riječi:** veliki vranac, lovno gospodarenje, prebrojavanje divljih životinja, analiza troškova i koristi

### Uvod

Veliki vranac jedna je od tri vrste vranaca koji obitavaju na području Republike Hrvatske. Veliki vranac nije na popisu divljači te se sa istim ne gospodari, međutim sukladno zakonskoj regulativi moguće je dopustiti i uznemiravanje te usmrćivanje velikog vranca, ako se dokaže da ugrožava drugu vrstu divlje flore ili faune, čini štete na ribnjacima ili ugrožava javno zdravlje, pod uvjetom da ne postoje druge pogodne mogućnosti te da odstupanje neće štetiti održavanju njegove populacije. Zakonodavni okvir Republike Hrvatske koji se odnosi na velikog vranca usklađen je sa propisima Europske unije i u skladu sa Direktivom 2009/147/EZ iz 2014. kojom je Europski parlament donio Zaključak temeljem kojeg svaka članica ima pravo poduzeti mjere kako bi ograničile utjecaj zaštićenih ptičjih vrsta radi sprječavanja nastanka ozbiljnih šteta na ribnjacima i vodama te kako bi se sačuvala flora i fauna. Praksa zemalja u gospodarenju velikim vrancom na području Europe je različita. Prema Austrijskom federalnom ministarstvu za zaštitu klime, okoliša, energije, mobilnosti, inovacija i tehnologije ([www.bmlrt.gv.at](http://www.bmlrt.gv.at)) zimska brojnost procjenjuje na 4.000 do 4.500 jedinki. Austrijska populacije većinom obitava uz Dunav a sukladno izrađenim planovima gospodarenja za pojedine regije velikog vranca je dozvoljeno protjerivati. U Republici Češkoj se dozvoljava odstrel 10% procjenjene brojnosti ([www.mzp.cz](http://www.mzp.cz)). U susjednoj Bosni i Hercegovini veliki vranac nalazi se na popisu crvene liste faune FBiH. Prema starijim istraživanjima Obratil (1968.) veliki vranac gnijezdio je na većem broju lokaliteta. Krajem sedamdesetih i početkom osamdesetih godina dvadesetoga stoljeća zabilježena su gnijezđenja na Bardači i Hutovom blatu (Obratil 1978.). Procjenjuje se da na tim područjima gnijezdi 120 – 150 parova (Kotrošan i Sarajlić 2014.). U Republici Srbiji veliki vranac je 2016. god. skinut sa popisa divljači nakon što je prebrojavanjima utvrđena relativno mala brojnost od 16 kolonija odnosno brojnost gnijezdeće populacije procijenjena

na 1871 – 1981 par. Sličan status veliki vranac ima i u Crnoj Gori. Prema dostupnim zapisima najveća brojnost bilježi se na jezeru Skadar i rijeci Bojani te ja za 2012. god. a ukupna brojnost gnijezdeće populacije procijenjena na 1156 parova (Šćiban i sur., 2012.). U Republici Hrvatskoj veliki vranac je 2006. god. skinut sa popisa zaštićenih ptica no to se nije odnosilo na gnijezdeću populaciju. Problem je što se nije moglo razlikovati gnijezdeću od ostale populacije tako da lova nije bilo. Zadnji gospodarski zahvati vezani uz velikog vranca na teritoriju Republike Hrvatske poduzeti su 2018. god. kada je resorno ministarstvo u skladu sa preporukom Europske unije odobrilo odstrel 10% procijenjene zimujuće populacije pa je tako određena odstrelna kvota 1 200 jedinki i raspoređena na ribnjačarstva. Iste godine Ministarstvo povlači rješenje o odstrelu spomenute kvote.

## Ciljevi istraživanja

Kako bi se utvrdila brojnost populacije velikog vranca na dvije mikrolokacije unutar područja Grada Zagreba izvršit će se sukcesivna prebrojavanja. Istovremeno će se izraditi teorijski model razvoja populacije uz potencijalne odstrelne kvote te će se izraditi ekonomska analiza troškova i koristi uvrštavanja velikog vranca na popis divljači.

## Materijal i metode

Terensko istraživanje provedeno je na dvije mikrolokacije unutar Grada Zagreba. Prva lokacija nalazi se na području Malog jezera geografskih koordinata N45°46'45.9" i E15°56'05.2". Druga mikrolokacija nalazi se nešto zapadnije u odnosu na prvu na rijeci Savi (N45°46'42.9" i E15°54'25.4"). Površina prve lokacije iznosi 11 h dok je druga lokacija 600 m toka rijeke Save ili 4,3 ha. U periodu 25.02 – 14.04. 2019. obavljena su sukcesivna prebrojavanja osmatranjem. Analizom troškova i koristi (*cost benefit analysis*) utvrđena je ekonomska isplativost uvrštavanja velikog vranca na popis divljači. Analiza je obuhvatila izradu modela (predikciju) razvoja populacije s gospodarskim zahvatima te novčanim tokom (Orsag 2002., Orsag i Dedi 2011.). Tablična obrada i priprema prikupljenih podataka te izrada prikaza izvršena je korištenjem Excel-a. Statističke obrade podataka izvršene su programom Statistica 13. Uz velikog vranca evidentirana je i prisutnost ostalih krupnijih ptica unutar istraživanog područja (crna liska (*Fulica atra*), siva vrana (*Corvus frugilegus*), divlja patka (*Anas platyrhynchos*)).

## Rezultati i rasprava

Na dvije lokacije tijekom istraživačkog perioda izvršena su prebrojavanja velikog vranca osmatranjem. Rezultati prebrojavanja prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Rezultati prebrojavanja velikog vranca na istraživanim lokalitetima

Lokacija	Datum	Veliki vranac				Broj jedinki	Divlja patka	Siva vrana	Crna liska
		Vr. Dolaska	Vr. Odlaska	Vremenske prilike	Broj jedinki		Broj jedinki	Broj jedinki	
Malo jezero	4.3.2019.	14:10	15:25	Oblačno, vjetar	37	9	7	35	
Malo jezero	15.3.2019.	13:55	15:00	Sunčano	16	9	3	15	
Malo jezero	27.3.2019.	14:15	15:15	Oblačno, vjetar	5	4	3	/	
Malo jezero	14.4.2019.	16:15	17:30	Oblačno	/	5	/	/	
Sava	25.2.2019.	14:00	15:30	Sunčano	9	10	9	/	
Sava	2.3.2019.	15:45	16:45	Oblačno	1	9	52	/	
Sava	14.3.2019.	13:45	15:45	Sunčano	7	2	15	/	
Sava	15.3.2019.	10:45	12:00	Oblačno	4	3	4	/	
Sava	13.4.2019.	14:00	15:30	Oblačno	1	4	6	/	

Tijekom istraživačkog perioda od 25.2.2019. do 14.4.2019. godine u 9 izlazaka na teren prosječno zadržavanje po lokaciji iznosilo je 01:23 h. Prebrojavani su veliki vranaci, bilježena je njihova aktivnost, prisutnost ostalih vrsta te su evidentirane vremenske prilike (Tablica 1). Prosječna brojnost na jezeru (lokacija 1) tijekom istraživačkog razdoblja iznosila je 14.5 jedinki +/- 16,42 uz gustoću od 1,31 jedinki na hektar vodene površine. Na rijeci Savi (lokacija 2) prosječna brojnost iznosila je 4,4 jedinke +/- 3,57 i gustoću 1,02 jedinki/ha vodene površine. Na lokaciji 1 izbrojan je značajno veći broj vranaca u odnosu na lokaciju 2 ( $p < 0,01$ ). Dolaskom proljeća i listanja brojnost velikog vranca na obje lokacije postupno je opadala te na zadnjem brojanju 14.4.2019. na lokaciji 1 nije zabilježena niti jedna jedinka dok je na lokaciji 2 u zadnjem brojanju 13.4.2019. zabilježena tek jedna jedinka što je potvrda dostadašnjih spoznaja (Piria, 2014.). Na rijeci Savi aktivnost velikog vranca je bila minimalna, lov je bio rijedak i pojedinačan i uglavnom bez registriranog uspjeha. Na jezeru je zabilježena puno veća lovna aktivnost pojedinačna i u skupinama. Tijekom prebrojavanja vezano uz vremenske prilike primjetna je smanjena aktivnost samo u vrijeme jačeg vjetrova. Za ostale vremenske prilike na može se ustanoviti da su od utjecaja na aktivnost. Od ostalih vrsta ptica na jezeru su zabilježeni crna liska (*Fulica atra*), siva vrana (*Corvus cornix*), divlje patke gluhare (*Anas platyrhynchos*) rijeđe crvenokljuni labud (*Cygnus olor*) i riječni galeb (*Larus ridibundus*).

Rezultati analize dobiti i troškova teorijskog modela gospodarenja velikim vrancom

Tablica 2. Teorijski razvoj fonda velikog vranca, prihodi i troškovi s redovitim gospodarenjem u Republici Hrvatskoj

Godina	MF	Odstrel	Prihod (P)			Troškovi (T)			Razlika (P - T) kn	Granica rentabilnosti kn/kljun
			Lov (140 kn/kljun)	Lovni pratitelj (300 kn/dan)	Ukupno	Riba (30 kn/kg)	Stabla (90kn/m <sup>3</sup> )	Ukupno		
0	12000	7000	980.000	27.000	1.007.000	65.700.000	162.000	65.862.000	-64.855.000	9.409
1	11000	6000	800.000	25.714	825.714	57.357.143	141.429	57.498.571	-56.672.857	9.583
2	10500	6000	761.905	24.490	786.395	52.142.857	128.571	52.271.429	-51.485.034	8.712
3	9750	5500	665.155	23.324	688.479	46.112.731	113.703	46.226.433	-45.537.955	8.405
4	9125	5100	587.410	22.213	609.623	41.097.074	99.958	41.197.032	-40.587.410	8.078
5	8588	4882	535.524	21.155	556.680	36.840.852	90.840	36.931.692	-36.375.013	7.565
6	8000	4000	417.881	20.148	438.028	32.684.234	80.591	32.764.826	-32.326.797	8.191
7	8000	4000	397.982	19.188	417.170	31.127.842	76.754	31.204.596	-30.787.426	7.801
8	8000	4000	379.030	18.275	397.305	29.645.564	73.099	29.718.663	-29.321.358	7.430

Kako bi se što realnije procijenili i u što većoj mjeri obuhvatili svi troškovi i prihodi koji bi bili posljedica i rezultat uvrštavanja velikog vranca na popis divljači u tablici 2 izrađena je analiza troškova i koristi gospodarenja. Prilikom izrade modela korištena je kamatna stopa za diskontiranje iznosa u iznosu od 5 %. Prema istraživanju Plantosar (2019.) podnošljiva brojnost u Republici Hrvatskoj iznosila bi 8 000 jedinki. Prema *Birdlife* ([www.birdlife.org](http://www.birdlife.org)) trenutna brojnost u Republici Hrvatskoj iznosi 12.000 jedinki. U šestoj godini gospodarenja postigao bi se gospodarski kapacitet te bi teorijska brojnosti iznosila 8 000 jedinki uz odstrel u visini prirasta od 4000 jedinki. Godišnji prirast obračunat je u visini jednog kljuna po spolno zreloj ženki uz omjer spolova 1:1. Cijena velikog vranca u odstrelu iznosila bi 140 kuna po kljunu obzirom su cijene odstrela sitne pernate divljači u tom rangu. Analizom je ustanovljeno da bi u prvoj godini vrijednost odstrela iznosila oko 800.000 kuna. Taj rezultat je dobiven množenjem broja jedinki u odstrelu koji se diskontirao za početnu godinu uz kamatnu stopu 5% s potencijom godina, u ovom slučaju jedan. Prema Terzić i sur., (2008.) dnevna potreba velikog vranca za ribom ovisi o većem broju faktora i procjenjuje se da iznosi od 150 – 750 g. Istraživanja sadržaja želuca u okolini Donjeg Miholjca pokazala su prosječnu

masu 244 g (Opačak i sur., 2004.). U ovoj kalkulaciji uzet je iznos od 500g. Taj iznos korišten je za dobivanje ukupnog troška pojedene ribe prema procjenjenoj brojnosti velikog vranca u Republici Hrvatskoj. Za ovu kalkulaciju uzeta je cijena ribe 30 kn/kg. Tijekom istraživanja uočeno je da uslijed boravka uz vodene površine vranac ima naviku koristiti za odmor uvijek ista stabla. Primijećeno je da su takva stabla u nekoj od faza odumiranja. Razlozi odumiranja mogu biti različiti, međutim opaženo je da na stablima i oko stabala veliki vranac ostavlja velike količine izmeta što vjerojatno kroz dulji period doprinosi fiziološkim slabljenja i propadanju takvih stabala. Ukupna šteta na stablima tj. potencijalna drvena masa koja na taj način propadne također je uzeta u obračun i analizu troškova. Tijekom terenskih istraživanja uočeno je da vremenske prilike ne utječu na brojnost velikog vranca. Iz obrasca prebrojavanja je uočljivo kako broj jedinki velikog vranca opada s dolaskom proljeća, odnosno kako je broj veći tijekom zime i ranijih mjeseci u godini. Ovdje se može potvrditi ranija saznanja da veliki vranac kod nas dolazi zimovat iz sjevernih kraljeva Europe i njihov se broj vjerojatno značajno povećava preko zime. Tijekom istraživanja nije zabilježen antagonistički odnos ostalih vrsta koje koriste isto područje (crna liska, divlja patka, siva vrana). Veliki vranac je alohtona vrsta u Hrvatskoj, ali i u Europi. Njegova domovina je Azija, prvenstveno Kina i Indija, iz koje su ga Nizozemci u 17. stoljeću dovezli u Europu. Kao alohtona vrsta ima utjecaj na ekosustav i lanac prehrane, hraneći se velikim količinama ribe. Istovremeno osim čovjeka sam nema prirodnog neprijatelja. Prema ([www.birdlife.org](http://www.birdlife.org)) brojnost se posljednjih godina toliko povećala da ga sada u Europi ima oko 2.000.000, samo u Njemačkoj 130.000, a u Hrvatskoj 12.000. Taj broj se iz godine u godinu povećava (Piria, 2014.) sa najvećim populacijama u Švedskoj, Norveškoj i Finskoj.

## Zaključak

Provedenim istraživanjima utvrđena je veća brojnost velikog vranca u zimskim mjesecima da bi dolaskom proljeća broj postupno opadao. Analiza troškova i koristi teorijskog modela u slučaju početka gospodarenja velikim vrancom i stavljanjem istoga na popis divljači pokazala je ogroman nesrazmjer prihoda i rashoda na stranu rashoda. Na koncu može se zaključiti da je veliki vranac alohtona vrsta koja svojom aktivnošću i hranjenjem ima utjecaj na riblji fond, zamijetilo se da čini štetu na stablima, te istovremeno nema prirodnih neprijatelja. U budućnosti će se brojnost velikog vranca vjerojatno povećavati a time i svi negativni utjecaji na staništa i privredu.

## Literatura

- European comision (2013). Applying derogations under Article 9 of the Birds Directive 2009/147/EC.  
<https://www.birdlife.org/>  
<https://www.mzp.cz/>  
<https://www.bmlrt.gv.at/>
- Kotrošan D., Sarajlić N. (2014). Ornitofauna Hutova blata – stanje i perspektive. Naš krš, 34 (47): 146-169.
- Piria M. (2014). Utjecaj velikog vranca (*Phalacrocorax carbo sinensis*) na riblji stok - pregled. Croatian Journal of Fisheries. Ribarstvo, Vol. 72(4), 2014.
- Opačak A., Florijančić T., Horvat D., Ozimec S. (2004). Diet spectrum of great cormorants (*Phalacrocorax carbo sinensis* L.) at the Donji Miholjac carp fishponds in eastern Croatia. Eur J Wildl Res 50: 173–178.
- Orsag S. (2002). Budžetiranje kapitala-Procjena investicijskih projekata, Zagreb, 308.
- Orsag S., Dedi L. (2011). Budžetiranje kapitala-Procjena investicijskih projekata, Zagreb, Masmedia, s. 416.
- Obratil S. (1978). Gniježđenje vranca velikog (*Phalacrocorax carbo*) u Bosni i Hercegovini. Glasnik Zemaljskog muzeja. Vol. XVII: 343 - 347.

- Plantosar M. (2019). Analiza toškova i koristi uvrštavanja velikog vranca (*Phalacrocorax carbo*) na popis divljači, Diplomski rad, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, s. 36.
- Šćiban M., Đorđević I., Stanković D., Ham I., Dučić N., Rudić B., Grujić D., Sekereš O., Manasijević Z., Rajković D., Grubač B., Balog I. (2012). Kolonije velikog vranca (*Phalacrocorax carbo*) u Srbiji 2012. Radovi 2012, s. 11 – 19.
- Terzić K., Opačak A., Jelkić D., Florijančić T. (2008). Metode procjene hranidbe velikog vranca - Kormorana (*Phalacrocorax carbo sinensis*). Ribarstvo 66: 133—145.

## **Resources, costs and benefits of Cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis*) management**

### **Abstract**

The great cormorant, is one of the three species of genus cormorant that inhabit the territory of the Republic of Croatia. In case of a large number of birds it can cause significant damage to the fish stock. In order to perform a research on all aspects of a possible great cormorant management, this issue is divided in two segments. Field experiments (mensurations) were conducted to estimate birds quantity at two locations. In addition to the absolute and relative quantity, the activity on water surfaces was also recorded. The following part of the research included a cost benefit analysis of the theoretical management model in the scenario by which the great cormorant is on the game list (possible for regular game management which includes hunting). At two locations during nine observations in the time period from 25.02 - 14.04. 2019 an average of 8,8 individuals were counted +/- 11,65. The cost-benefit analysis of including the great cormorant on the list of game for the theoretical period of future 8 years showed that the total costs would amount to about HRK 400 million, while the revenues would be only at about 5.7 million kuna. The conclusion is that there is no economic justification for possible great cormorant hunting management.

**Key words:** great cormorant, hunting management, wild animal counting, cost-benefit analysis



**Stočarstvo**

**07**

**Animal  
Husbandry**





## Aktivnost enzima i koncentracija hormona štitaste žlijezde u krvi ovaca i janjadi

Zvonko Antunović, Željka Klir Šalavardić, Josip Novoselec

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayer u Osijeku, V. Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska (zantunovic@fazos.hr)*

### Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi aktivnosti enzima i koncentracije hormona štitaste žlijezde u krvi ovaca i janjadi te ih usporediti s fiziološkim vrijednostima za ovce i s rezultatima dosadašnjih istraživanja. Istraživanje je provedeno na 10 ovaca u laktaciji i 10 janjadi Merinolandschaf pasmine u tovu. Utvrđeno je povećanje aktivnosti ALP u krvi janjadi koje su iznad referentnih vrijednosti, te nešto viša aktivnost CK u krvi janjadi u odnosu na ovce što ukazuje na intenzivan metabolizam usmjeren na rast i razvoj. Koncentracije hormona štitaste žlijezde ukazuju na dobru energetska opskrbu, a njihove varijacije u usporedbi s drugim istraživanjima mogu se povezati s različitim uvjetima držanja, reprodukcijom statusom, lokacijom i metodama određivanja.

**Ključne riječi:** ovce, janjad, aktivnost enzima, hormoni štitaste žlijezde, krv

### Uvod

Laktacija i odbiće su vrlo stresna razdoblja za životinje kada im se vrlo lako može ugroziti zdravlje i narušiti njihova proizvodnost. Kao pomoć u praćenju zdravstvenog statusa ovaca i janjadi može se, između ostaloga, koristiti i utvrđivanje aktivnosti pojedinih enzima u krvi te koncentracija hormona koji sudjeluju u metabolizmu, prije svega hormona štitaste žlijezde (Antunović i sur., 2009.a). Boyd i sur. (1988.) su zaključili da je povećanje aktivnosti enzima u krvi vrlo dobar pokazatelj oštećenja tkiva koje se može utvrditi prije negoli se uoče druge kliničke ili patološke promjene. Isti autori su naveli da se primjerice, bolesti jetre i bubrega mogu prepoznati po značajnom povećanju aktivnosti alfa amilaze u krvi; bolesti kostiju po smanjenju aktivnosti ALP (alkalna fosfataza), bolesti žuči i jetre, uzrokovane invadiranosti organizma različitim jetreno-žučnim parazitima, po povećanju aktivnosti GGT ( $\gamma$ -glutamil transferaza), a bolesti bijelih mišića po značajnom smanjenju aktivnosti enzima glutathion peroksidaze u krvi. Također, povećanje aktivnosti enzima CK u mišićima i miokardu znak je mišićne distrofije i miopatije, a kod pojave masne jetre uočeno je povećanje aktivnosti AST (aspartat aminotransferaza). Isto tako, Price i Stevens (2003.) su istaknuli da određivanje aktivnosti enzima u krvi može ukazati na različite bolesti u organizmu životinja. Brojne su uloge koje imaju hormoni štitaste žlijezde u organizmu životinja što se odražava i na značajan utjecaj na zdravlje i proizvodnost ovaca (Antunović i sur., 2009.a; Novoselec i sur., 2009.; Ferlazzo i sur., 2018.). Hormoni štitaste žlijezde T<sub>3</sub> (3-3'-5-trijodotironin) i T<sub>4</sub> (tiroksin) u organizmu životinja sudjeluju u termoregulaciji i metabolizmu homeostaze energije i bjelančevina, kao i u metaboličkom odgovoru životinja kao posljedica različitih hranidbenih događanja i promjena u okolišu koji izazivaju stres (Huszeniczka i sur., 2002.; Fazio i sur., 2016.a). Koncentracija hormona štitaste žlijezde kao i aktivnost enzima ovise o brojnim čimbenicima: genetskim, okolišnim i nutritivnim (Todini, 2007.; Paulikova i sur., 2011.). Neke studije imale su za cilj utvrditi koncentracije hormona štitaste žlijezde u krvi ovaca i janjadi osobito u zahtjevnim razdobljima života (intenzivan rast, visoka gravidnost, laktacija; Bekeova i sur., 1993.; Antunović i sur., 2009.b; Novoselec i sur., 2009.; Fazio i sur., 2016.b; Singh i sur., 2018.).

Cilj ovoga rada je bio utvrditi aktivnost enzima i koncentraciju hormona štitaste žlijezde u krvi ovaca i janjadi ti ih usporediti s referentnim vrijednostima i s rezultatima dosadašnjih istraživanja provedenih s ovcama i janjadi iz dostupne literature.

### Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na 10 ovaca i 10 janjadi Merinolandschaf pasmine uzgajanih na obiteljskom poljoprivrednim gospodarstvu u Gašincima, Osječko-baranjska županija, koje se dugi niz godina bavi uzgojem ove pasmine ovaca. Ovce su bile u sredini laktacije (90 dan), a janjad u razdoblju 20 dana nakon odbića. Ovce su bile u dobi 4 godine i u trećoj laktaciji, a janjad u dobi 110 dana. Odabrane životinje su bile u dobroj kondiciji i zadovoljavajućeg zdravlja. Istraživanje je provedeno tijekom kasnog proljeća kada su ovce boravile na pašnjaku, a po povratku u staju su konzumirale sijeno lucerne po volji, a janjad je konzumirala krmnu smjesu i sijeno lucerne po volji. Voda i stočna cigla su im bile po volji. Uzorci krvi (10 ml) za utvrđivanje aktivnosti enzima i koncentracija hormona štitaste žlijezde uzeti su iz jugularne vene ujutro, prije odlaska ovaca na ispašu i prije ponude hrane janjadi, u sterilne vakum tube Venoject® (Leuven, Belgium). Nakon transporta uzoraka u laboratorij izvršeno je centrifugiranje uzoraka tijekom 10 minuta na 3000 okretaja te je odvojen serum. Aktivnosti enzima (ALT-alanin aminotransferaza, AST-aspartat aminotransferaza, CK-kreatin kinaza, ALP- alkalna fosfataza, GGT-  $\gamma$ -glutamil transferaza i CHOL-kolinesteraza) utvrđeni su u krvnom serumu ovaca i janjadi na aparatu Olympus AU400. Koncentracije hormona štitaste žlijezde trijodtironina (T<sub>3</sub>) i tiroksina (T<sub>4</sub>) utvrđene su u krvnom serumu ovaca i janjadi metodom MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay) i FPAI (Fluorescence Polarization Immunoassay) na automatskom imunoanalizatoru IMX-ABBOTT. Aktivnost ADH (alkoholne dehidrogenaze) određena je u serumu po metodi Kägi i Vallee (1960.) korištenjem uređaja Analytik Jena Specord 40.

Dobiveni rezultati su statistički obrađeni pomoću računalnog statističkog programa SAS/STAT 9.3 (2013.) te prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

### Rezultati i rasprava

U Tablici 1 prikazani su rezultati aktivnosti enzima u ovaca i janjadi te referentne vrijednosti za navedene pokazatelje.

Tablica 1. Aktivnost enzima u krvi ovaca i janjadi Merinoladschaf pasmine

Enzimi, U/L	Ovce	Janjad	Referentne vrijednosti*
	Srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija		
ADH, U/mL	0,020 $\pm$ 0,011	0,020 $\pm$ 0,006	-
ALP	228,47 $\pm$ 95,36	661,93 $\pm$ 155,49	68–387
AST	102,40 $\pm$ 19,05	106,27 $\pm$ 43,65	60-280
ALT	19,13 $\pm$ 3,10	20,20 $\pm$ 14,02	11-40
CK	111,33 $\pm$ 34,76	243,53 $\pm$ 109,46	100-584
CHOL	141,53 $\pm$ 13,99	128,33 $\pm$ 7,85	137,87**
GGT	48,20 $\pm$ 9,42	29,70 $\pm$ 5,28	15-60

\*Kaneke i sur. (2008.); \*\*Antunović i sur. (2004.)

Analizom Tablice 1 vidljivo je aktivnost enzima AST, ALT, CK, CHOL i GGT u krvi ovaca i janjadi bila u granicama referentnih vrijednosti za ovce. Utvrđeno povećanje aktivnosti ALP u krvi janjadi koje su iznad referentnih vrijednosti za ovce, kao i nešto viša aktivnost CK u krvi janjadi u odnosu na ovce ukazuju na intenzivan metabolizam usmjeren na rast i razvoj janjadi. Povećanje aktivnosti ALP u krvi ovaca s povećanjem dobi utvrdili su i Tibbo

i sur. (2008.). U cilju uočavanja određenih patoloških stanja u organizmu ovaca mogu se uzeti utvrđene promjene u aktivnosti određenih enzima i to aktivnost CK > 300 U/L, a za aktivnost enzima AST > 150 U/L (White i Rewell, 2007.). Prema Kaneku i sur. (2008.) gornja fiziološka granica za aktivnost ALT je 40 U/L, za aktivnost ALP 387 U/L, a za aktivnost GGT 60 U/L. U istraživanju provedenom s dubrovačkim rudama u ranoj laktaciji Antunović i sur. (2019.) su utvrdili nižu aktivnost za ALT, AST, ALP te sličnu za GGT u usporedbi s predmetnim istraživanjem.

U Tablici 2 prikazane su koncentracije hormona štitaste žlijezde u krvi ovaca i janjadi te referentne vrijednosti za navedene hormone.

Tablica 2. Koncentracija hormona štitaste žlijezde u krvi ovaca i janjadi Merinoladschaf pasmine

Hormoni	Ovce	Janjad	Referentne vrijednosti*
	Srednja vrijednost ± standardna devijacija		
T <sub>4</sub> (nmol/L)	86,86 ± 8,33	119,83 ± 19,65	63,95-103,1
T <sub>3</sub> (nmol/L)	3,38 ± 1,44	4,90 ± 1,26	1,25-2,00
Omjer T <sub>3</sub> /T <sub>4</sub>	0,039 ± 0,016	0,039 ± 0,010	-

\*Antunović i sur. (2010.)

Analizirajući tablicu 2 vidljivo je da je prosječna koncentracija T<sub>3</sub> u krvi bila viša i u ovaca i janjadi, a u janjadi i koncentracija T<sub>4</sub> u usporedbi s referentnim vrijednostima. Prosječna koncentracija T<sub>4</sub> u krvi ovaca je bila u okviru referentnih vrijednosti. Utvrđene koncentracije hormona štitaste žlijezde ukazuju na odgovarajuću opskrbljenost ovaca i janjadi energijom putem obroka. Naime, Todini (2007.) je istaknuo da se koncentracije hormona štitaste žlijezde mogu uzeti kao pouzdan kriterij za procjenu opskrbljenosti životinja energijom. Rhind i sur. (2000.) iznose da su Soay ovce u dobi jedne godine, koje su hranjene po volji, imale značajno višu koncentraciju hormona štitaste žlijezde u plazmi u usporedbi s onima koje su imale ograničen obrok.

Usporedbom rezultata predmetnih istraživanja s onima drugih autora uočeno je da su Paulikova i sur. (2011.) utvrdili su slične koncentracije T<sub>3</sub> (2,04-5,58 nmol/L) i T<sub>4</sub> (49,67-146,46 nmol/l). Niže koncentracije T<sub>3</sub> u serumu ovaca (2,13 nmol/L; od 0,96 do 2,30 nmol/L) i za T<sub>4</sub> (88,25 nmol/L; od 37,96 do 79,15 nmol/L) utvrdili su Anderson i sur. (1988.). U istraživanju Antunovića i sur. (2019.) provedenom s dubrovačkim rudama koje su konzumirale krmnu smjesu u laktaciji utvrđene su niže koncentracije T<sub>3</sub> (1,54 nmol/L) i omjer T<sub>3</sub>/T<sub>4</sub> (0,016) te više koncentracije T<sub>4</sub> hormona (96,14 nmol/L) u usporedbi s predmetnim istraživanjem. U istraživanju s Merinolandschaf janjadi u tovu utvrđene su niže koncentracije hormona štitaste žlijezde (T<sub>3</sub>: 1,39 nmol/L i T<sub>4</sub>: 80,47 nmol/L; Antunović i sur., 2020.), a nešto više koncentracije T<sub>3</sub> te slične T<sub>4</sub> u krvi janjadi križane komisane, tijekom dva tjedna nakon odbića, utvrdili su Fazio i sur. (2016.b) u usporedbi s predmetnim istraživanjem. Navedene promjene koncentracija hormona štitaste žlijezde mogu biti rezultat različitih metoda utvrđivanja hormona ili utjecaja hranidbe, reprodukcijskog statusa, zemljopisnog položaja ili različitih uvjeta držanja. Do sličnih zaključaka došli su Fazio i sur. (2016.a).

## Zaključak

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da utvrđene aktivnosti enzima i koncentracije hormona štitaste žlijezde u krvi mogu biti od koristi pri praćenju metabolizma i zdravlja ovaca i janjadi.

## Napomena

Ovaj rad je dio istraživanja koja se provode u sklopu Istraživačkog tima „Inovativni uzgojno-tehnološki postupci u animalnoj proizvodnji“ (No. 1126) Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek.

## Literatura

- Anderson R. R., Nixon D. A., Akasha M. A. (1988). Total and free thyroxine and triiodothyronine in blood serum of mammals.. *Comparative Biochemistry and Physiology A: Physiology*. 89 (3): 401-404.
- Antunović Z., Šperanda M., Steiner Z. (2004). The influence of age and the reproductive status to the blood indicators of the ewes. *Archives Animal Breeding*. 47 (3): 265–273.
- Antunović Z., Marić I., Matanić I., Senčić Đ., Šperanda M. (2009a). Aktivnost enzima i hormona štitnjače u krvi za procjenu opskrbljenosti ovaca selenom. *Krmiva*. 51 (3): 131-137.
- Antunović Z., Novoselec J., Senčić Đ., Šperanda M., Đidara M. (2009b). Aktivnost hormona štitnjače u krvi ovaca početkom laktacije. *Zbornik radova 44. hrvatskog i 4. međunarodnog Simpozij agronoma*. Marić S., Lončarić, Z. (eds.), 795-799. Opatija, Hrvatska, 16.-20.02.2009. Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
- Antunović Z., Novoselec J., Sauerwein H., Mensur V., Šperanda M. (2010). Blood metabolic hormones and leptin in growing lambs. *Poljoprivreda*. 16 (2): 29-34.
- Antunović Z., Marić I., Klir Ž., Mioč B., Novoselec J. (2019). The effect of concentrates on production traits, biochemical parameters and thyroid hormones concentration in Dubrovnik sheep fed forage based-diets. *Veterinarski Arhiv*. 89 (4): 505-518.
- Antunović Z., Klir Ž., Šperanda M., Lončarić Z., Mioč B., Čebulj Kadunc N., Samac D., Novoselec J. (2020). Productive traits, selenium status and blood metabolic status in fattening lambs affected by selenium biofortified corn. *Acta Veterinaria Brno*. 89 (2): 141–150.
- Bekeova E., Krajnicakova M., Hendrichovsky V., Maracek, I. (1993). Alkaline-phosphatase in the puerperium of ewes and its relation to thyroid-hormones and ovarian-steroids. *Veterinarni Medicina*. 38 (6): 359-368.
- Boyd J. W. (1988). Serum enzymes in the diagnosis of disease in man and animals. *Journal of Comparative Pathology*. 98 (4): 381–404.
- Fazio E., Medica P., Cravana C., Ferlazzo A. (2016a). Effects of previous experience on total blood and free iodothyronine responses to isolation, restraint and shearing in sheep (*Ovis aries*). *Veterinarni Medicina*. 61 (2): 65–71.
- Fazio E., Ferlazzo A., Cravana C., Medica P. (2016b). Effects of weaning on total and free iodothyronines in lambs. *Veterinary Quarterly*. 35 (1): 16-20.
- Ferlazzo A., Cravana C., Fazio E., Medica P. (2018). The contribution of total and free iodothyronines to welfare maintenance and management stress coping in Ruminants and Equines: Physiological ranges and reference values. *Research in Veterinary Science*. 118 (3): 134-143.
- Huszenicza Gy., Kulcsar M., Rudas P. (2002). Clinical endocrinology of thyroid gland function in ruminants. *Veterinarni Medicina*. 47 (7): 199-210.
- Kägi J. H. R., Vallee B. L. (1960). The role of Zinc in Alcohol Dehydrogenase. *Journal of Biological Chemistry*. 235 (11): 3188-3192.
- Kaneko J. J., Harvey J. W., Bruss M. L. (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6<sup>th</sup> ed. pp. 931. Elsevier/Academic Press, Amsterdam.
- Novoselec, J., Antunović Z., Šperanda M., Steiner Z., Šperanda M. (2009). Changes of thyroid hormones concentration in blood of sheep depending on age and reproductive status. *Italian Journal of Animal Science*. 8 (3): 208-210.
- Paulikova I., Seidel H., Nagy O., Tothova Cs., Kovač G. (2011). Concentrations of thyroid hormones in various age categories of ruminants and swine. *Acta Veterinaria Beograd*. 61 (5-6): 489-503.
- Price N. C., Stevens L. (2003). *Fundamentals of enzymology. The cell and molecular biology of catalytic proteins*. 3<sup>rd</sup> ed. p. 478. Oxford University Press. Inc. New York.

- Rhind S. M., Mcmillen S. R., Kyle C. E., Wright S. (2000). Effect of long-term feed restriction on seasonal endocrine changes in Soay sheep. *Physiology & Behavior*. 71 (3-4): 343- 351.
- SAS/STAT 9.3 Copyright (c) 2013.-2014. by SAS Institut Inc., Cary, NC, USA
- Singh S. P., Das G., Natesan R., Kushwah Y., Sharma N., Kumare A. (2018). Endocrine and hematobiochemical profile of lambs raised in a semiarid region with different growth potentials during the postweaning period. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 42 (2): 120-129.
- Tibbo M., Woldemeskw K., Aragaw K., Rege J. E. O. (2008). Serum enzyme levels and influencing factors in three indigenous Ethiopian sheep breeds. *Comparative Clinical Pathology*. 17 (3): 149–155.
- Todini L. (2007). Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors. *Animal*. 1 (7): 997-1008.
- White C. L., Rewell L. (2007). Vitamin E and selenium status of sheep during autumn in Western Australia and its relationship to the incidence of apparent white muscle disease. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 47 (5): 535-543.

## **Blood Enzymes activities and thyroid hormone concentration in the blood of sheep and lambs**

### **Abstract**

The aim of the research was to determine the activities of enzymes and thyroid hormone concentrations in the blood of sheep and lambs and to compare them with the physiological values for sheep and with the results of previous investigations. The study was conducted on 10 lactating sheep and 10 lambs of the Merinolandschaf breed in fattening. It showed increase in ALP activity in the blood of lambs that are above the physiological reference values, and a slightly higher CK activity in the blood of lambs compared to sheep, indicating an intense metabolism directed towards growth and development. Thyroid hormone concentrations indicate a good energy supply, and their variations compared to other studies may be related to different housing conditions, reproductive status, location, and methods of determination.

**Key words:** sheep, lambs, enzymes activity, thyroid hormones, blood

## Utjecaj pigmenta kantaksantina u krmnim smjesama na boju kože tovnih pilića

Dalibor Bedeković<sup>1</sup>, Luka Dlesk<sup>1</sup>, Zlatko Janječić<sup>1</sup>, Jasna Pintar<sup>1</sup>, Goran Kiš<sup>1</sup>, Gordana Duvanjak<sup>2</sup>, Ivan Širić<sup>1</sup>, Ivica Kos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (dbedekovic@agr.hr)

<sup>2</sup>Ministarstvo poljoprivrede, Ilica 101, 10000 Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Cilj rada bio je utvrditi utjecaj razine pigmenta kantaksantina na boju kože pilića. Korišteno je 240 pilića podijeljenih u 3 tretmana s 4 ponavljanja. Tretman A sadržavao je 80 mg, B 60 mg, te C 40 mg kantaksantina/kg krmne smjese. Boja kože za vrijednosti svjetline ( $L^*$ ) i crvenila ( $a^*$ ) nije se razlikovala ( $p > 0,05$ ). Tretman A imao je veće vrijednosti žutila ( $b^*$ ) i zasićenosti boje ( $C^*$ ) u odnosu na tretmane B i C, koji se međusobno nisu razlikovali. Stoga se može zaključiti da je dodavanje 80 mg kantaksantina značajno povećalo ( $p \leq 0,05$ ) vrijednosti žutila ( $b^*$ ) i zasićenosti boje ( $C^*$ ) kože. No, shodno rezultatima opravdano je korištenje i niže razine dodanog pigmenta kantaksantina od 40 mg/kg krmne smjese jer tako pojeftinjujemo proizvodnju, a učinak dodanog pigmenta je istovjetan dodavanju kantaksantina s udjelom od 60 mg/kg.

**Ključne riječi:** pigment, kantaksantin, boja kože, tovnih pilića

### Uvod

Proizvodnja pilećeg mesa na svjetskoj razini bilježi stalan porast, a paralelno s time bilježi se i stalno povećanje potrošnje pilećeg mesa *per capita* (Wideman i sur., 2016.). Razlozi povećanja potrošnje pilećeg mesa su brz prirast, niska konverzija krmne smjese te mali udio masti posebice u prsnom mišićju koji uz to obiluje visokim udjelom proteina. Dodatni razlog za povećanu konzumaciju pilećeg mesa u odnosu na meso ostalih životinja je izostanak religijskih ograničenja za njegovu konzumaciju (Grgić i sur., 2015.). Moderan i ubrzan način života, posebice u velikim gradovima, sve više vodi k tome da se u prehrani ljudi koriste polugotovi ili gotovi pileći proizvodi pogodni za brzu pripremu, a osobito se takav način prehrane bilježi kod mladih ljudi (Kovačić i sur., 2011.). Još je u prošlom stoljeću utvrđeno da je boja snažno povezana s odabirom hrane, te ovisno o regionalnim preferencijama, boja kože ima važnu ulogu u odabiru brojlera od strane potrošača (Lee, 1911.; Bunell i Bauernfeind, 1962.). Kako bi se zadovoljile želje kupaca za što intenzivnije žutom bojom kože kod tovnih pilića, pribjegava se korištenju pigmentata u krmnim smjesama za njihovu hranidbu. U krmne smjese za hranidbu pilića mogu se dodavati prirodni ili sintetski pigmenti (Castaneda i sur., 2005.) do zakonski dozvoljenih razina. Tako je i razina crvenog pigmenta kantaksantina, kao najčešće korištenog, prema zakonskoj regulativi maksimalno dopuštena do razine od 80 mg/kg krmne smjese (Direktiva komisije 2003./7/EZ). Visoka cijena hranidbenih pigmentata čini postizanje željene boje izrazito skupim, stoga bi za smanjenje troškova proizvodnje bilo korisno smanjenje njihove razine u krmnim smjesama. Cilj rada bio je utvrditi optimalnu količinu dodanog pigmenta u hranu pilića kojom se postiže zadovoljavajuća obojenost kože te njena održivost.

## Materijal i metode

U istraživanju je korišteno 240 jednodnevnih muških Ross pilića koji su slučajnim odabirom podijeljeni u 12 skupina po 20 pilića, tri hranidbena tretmana (A, B i C) sa četiri ponavljanja po tretmanu. Krmna smjesa u tretmanu A sadržavala je 80 mg, tretmanu B 60 mg, a u tretmanu C 40 mg kantaksantina (Carophyll Red 10 %, DSM, Francuska) po kilogramu. Tijekom istraživanja korištene su četiri vrste krmnih smjesa koje su svojim sastavom bile prilagođene dobi pilića: Starter-22 (od 1. do 14. dana), Grover-20 (od 15. do 26. dana), Grover-18 (od 27. do 35. dana) i završna krmna smjesa Finišer-18 (od 36. do 42. dana). Kemijski sastav krmnih smjesa analiziran je u laboratoriju Zavoda za hranidbu životinja Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Tablica 1).

Tablica 1. Kemijski sastav krmnih smjesa (g/kg)

Pokazatelj	Starter-22	Grover-20	Grover-18	Finišer-18
Vlaga	112	109	110	112
Pepeo	61	50	48	47
Sirovi protein	200,6	202,5	170,4	173,6
Mast	56	59	50	63
Sirova vlakna	22	23	21	25
Kalcij	11,7	8,2	8,7	7,1
Fosfor	6,4	5,3	5,1	4,5
Natrij	1,6	1,5	1,6	1,4
Šećer	43	45,7	37,8	25,8
Škrob	371,8	418,9	460,9	450,1

U dobi pilića od 42 dana iz svake je pokusne skupine slučajnim odabirom izdvojeno po pet pilića, odnosno 20 pilića iz svakog tretmana te je izvršena klaonička obrada. Na trupovima je jedan sat nakon klanja, te nakon 24 sata hlađenja na temperaturi od +4°C provedeno utvrđivanje boje kože koja prekriva pileća prsa. Pokazatelji boje kože vrednovani su prema sustavu CIE Lab (CIE, 1978.), a izmjereni su pomoću Minolta kolorimetra (Konica Minolta Chroma Meter CR 410, Osaka, Japan) s 50 mm dijametarskim područjem mjerenja spektra boja; L\* (svjetlina), a\* (crvenilo), b\* (žutilo) i C\* (zasićenost boje). Dobiveni podaci obrađeni su statističkim programom SAS Studio University Edition ver. 3.71 (SAS Institute, 2018.) korištenjem GLM procedure s Tukey testom za usporedbu tretmana pri razini značajnosti  $p \leq 0,05$ .

## Rezultati i rasprava

Pokazatelji boje kože CIE L\*, a\*, b\* i C\* jedan sat nakon klanja kao i nakon 24 sata hlađenja prikazani su u Tablicama 2 i 3.

Tablica 2. Pokazatelji boje kože pilića mjereni 1 sat nakon klanja ( $\pm$ sd)

Svojstvo	Tretman		
	A	B	C
L*1	67,39 $\pm$ 1,65	66,77 $\pm$ 1,40	67,12 $\pm$ 1,62
a*1	8,95 $\pm$ 1,76	7,86 $\pm$ 1,12	8,46 $\pm$ 2,29
b*1	34,45 $\pm$ 3,78 <sup>a</sup>	29,35 $\pm$ 3,49 <sup>b</sup>	28,60 $\pm$ 3,50 <sup>b</sup>
C*1	35,64 $\pm$ 3,65 <sup>a</sup>	30,41 $\pm$ 3,40 <sup>b</sup>	29,93 $\pm$ 3,29 <sup>b</sup>

L\*: svjetlina ili ton boje; a\*: prisustvo crvene boje; b\*: prisustvo žute boje; C\*: intenzitet ili zasićenost boje  
<sup>a,b</sup> Vrijednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ( $p \leq 0,05$ )

Vrijednost svjetline L\* kretala se kod svih tretmana za mjerenja nakon jednog sata u rasponu od 66,77 do 67,39, a nakon 24 sata od 65,46 do 66,82. Utvrđene su nešto niže



vrijednosti nego što su ih utvrdili Sirri i sur. (2010.), no unutar raspona njihovih vrijednosti (od 65,85 do 81,67). Prosječno utvrđena vrijednost  $L^*$  pri istraživanju Sirri i sur. (2010.) iznosila je 75,2 što se može objasniti činjenicom da su u istraživanju koristili komercijalnu krmnu smjesu sa nižim sadržajem pigmenta.

Tablica 3. Pokazatelji boje kože pilića nakon 24 sata hlađenja ( $\pm$ sd)

Svojstvo	Tretman		
	A	B	C
$L^*_{24}$	66,82 $\pm$ 1,76	65,46 $\pm$ 3,58	65,72 $\pm$ 4,47
$a^*_{24}$	11,02 $\pm$ 2,19	10,55 $\pm$ 1,69	10,32 $\pm$ 1,94
$b^*_{24}$	38,94 $\pm$ 2,93 <sup>a</sup>	32,48 $\pm$ 3,15 <sup>b</sup>	30,40 $\pm$ 2,21 <sup>b</sup>
$C^*_{24}$	40,51 $\pm$ 3,07 <sup>a</sup>	34,18 $\pm$ 3,21 <sup>b</sup>	32,16 $\pm$ 2,14 <sup>b</sup>

$L^*$ : svjetlina ili ton boje;  $a^*$ : prisustvo crvene boje;  $b^*$ : prisustvo žute boje;  $C^*$ : intenzitet ili zasićenost boje  
<sup>a,b</sup> Vrijednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ( $p \leq 0,05$ )

Vrijednost pokazatelja crvene boje  $a^*$  mjerena 1 sat nakon klanja iznosila je od 7,86 do 8,59, a nakon 24 sata od 10,32 do 11,02 što su značajno više vrijednosti nego što navode Siri i sur. (2010.), a može se pripisati dodavanju kantaksantina u hranu pilića. Castaneda i sur. (2005.) navode da je s pozicije potrošača prihvatljiva vrijednost za crvenilo mesa  $a^* = 4$ . Više vrijednosti koje su dobivene u našem istraživanju posljedica su korištenja crvenog pigmenta kantaksantina, dok su u navedenim istraživanjima korišteni i pigmenti drugih karakteristika, odnosno, kombinacija ostalih pigmenata (npr. žutog) čime se smanji ekspresija crvenog pigmenta i koža postaje manje žuta (Casaneda i sur. 2005.).

Kao što je vidljivo iz tablica 2. i 3. svjetlina ( $L^*$ ) i crvenilo ( $a^*$ ) mjereni 1 i 24 sata nakon klanja pilića podjednaki su vrijednosti za sva tri tretmana, odnosno, nije utvrđena statistički značajna razlika između njih. S druge strane, žutilo ( $b^*$ ) i zasićenost boje ( $C^*$ ) imali su značajno više vrijednosti kod tretmana A u odnosu na tretmane B i C kod oba mjerenja, no međusobno se statistički nisu razlikovali ( $P > 0,05$ ). Vrijednosti  $b^*$  i  $C^*$  utvrđene u ovom istraživanju znatno su više nego što navode Makar (2018.), Siri i sur. (2010.) i Castaneda i sur. (2005.). To također pripisujemo korištenju samo crvenog pigmenta kantaksantina, u odnosu na korištenje drugih pigmenata, te boljoj biodostupnosti dodanog pigmenta na najvišoj razini dodavanja od 80 mg/kg. Takva povećana biodostupnost posljedica je korištenja organskog mineralnog kompleksa u krminim smjesama svih istraživanih skupina čiji utjecaj je prethodno utvrđen u istraživanju Bao i Choct (2009.).

Prema navedenom opravdano je korištenje i niže razine dodanog pigmenta kantaksantina od 40 mg/kg krmne smjese jer tako pojeftinjujemo proizvodnju, a učinak dodanog pigmenta je istovjetan dodavanju kantaksantina s udjelom od 60 mg/kg.

## Zaključak

Temeljem rezultata istraživanja boje kože u području pilećih prsiju jedan sat nakon klanja i nakon hlađenja od 24 sata može se zaključiti da dodatak crvenog pigmenta kantaksantina u razinama od 40 do 80 mg po kg krmne smjese nije imao značajan utjecaj ( $p > 0,05$ ) na vrijednosti svjetline ( $L^*$ ) i crvenila ( $a^*$ ). Dodavanje 80 mg kantaksantina po kg krmne smjese značajno je povećao ( $p \leq 0,05$ ) vrijednosti žutila ( $b^*$ ) i zasićenosti boje ( $C^*$ ) kože u odnosu na tretmane s dodatkom 40 i 60 mg ksantaksantina, no njihove vrijednosti nisu se međusobno značajno razlikovale ( $p > 0,05$ ) što opravdava korištenje razine kantaksantina od 40 mg/kg jer se tako smanjuje cijena proizvodnje tovnih pilića. Iako je istraživanjem utvrđen utjecaj razine pigmenta na instrumentalno određene pokazatelje boje, daljnja istraživanja bi trebala usmjeriti na senzorsko vredovanje prihvatljivosti boje kod potrošača. Na taj način

moglo bi se utvrditi poželjna razina boje kože utovljenih pilića za određeno podneblje. Nadalje potrebno je sastaviti smjernice za razine pigmenata u krmnim smjesama za tovnje piliće uzgajanih na određenom lokalitetu.

## Literatura

- Bao Y. M., and Mingan Choct. (2009). Trace mineral nutrition for broiler chickens and prospects of application of organically complexed trace minerals: a review. *Animal Production Science*. 49 (4): 269-282.
- Bunell R. H. and J. C. Bauernfeind. (1962). Chemistry, uses and properties of carotenoids in foods. *Food Technol.* 16: 42–43.
- Castaneda M. P., Hirschler E. M., Sams A. R. (2005). Skin pigmentation evaluation in broilers fed natural and synthetic pigments. *Poultry Science*. 84 (1): 143-147.
- CIE (1978). International Commission on Illumination, Recommendations on Uniform Color Spaces, Color Difference Equations, Psychometric Color Terms. C.I.E. Publication (No.15 (E-1.3.1) 1971/(TO-1.3) (Suppl. 15). Bureau Central de la C.I.E., Paris.
- Crnčec T. (2018). Utjecaj dodatka organskih minerala i pigmenata u hranu brojlera na prinos i kvalitetu mesa. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
- Direktiva komisije 2003/7/EZ <https://eur-lex.europa.eu/>
- Grgić I., Zrakić M., Hadelan L., Salputra G. (2015). Proizvodno-potrošna bilanca mesa peradi u Republici Hrvatskoj. *Poljoprivreda*, 21 (1): 82-88.
- Kovačić D., Cerjak M., Lang P., Markovina J. (2011). Suvremeni prehrambeni trendovi. *Zbornik radova 46. hrvatskog i 6. međunarodnog simpozija agronoma*, Pospišil, Milan (ur.). Opatija, Hrvatska, 14 - 18 veljače 2011. 257-261.
- Lee A. R., (1911). Fattening poultry. U.S.D.A., B. A. I., Bull. 140:1-60.
- Makar A. (2018). Utjecaj pigmentiranosti zrna kukuruza na boju mesa, kože i trbušnog masnog tkiva tovnih pilića. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- SAS Institute (2018). SAS Studio University Edition 3.71. Cary, NC, USA.
- Sirri F., Petracci M., Bianchi M., Meluzzi A. (2010). Survey of skin pigmentation of yellow-skinned broiler chickens. *Poultry Science*. 89: 1556-1561.
- Wideman N., O'bryan C. A., & Crandall P. G. (2016). Factors affecting poultry meat colour and consumer preferences-A review. *World's Poultry Science Journal*. 72 (2): 353-366.

## Influence of canthaxanthin pigment in compound feeds on the skin color of broilers

### Abstract

The aim of this study was to determine the effect of the level of canthaxanthin pigment on the skin color of chickens. 240 chickens divided into 3 treatments with 4 replicates were used. Treatment A contained 80 mg, B 60 mg, and C 40 mg canthaxanthin/kg of feed. Skin color for lightness (L\*) and redness (a\*) values did not differ ( $p > 0.05$ ). Treatment A had higher values of yellowness (b\*) and color saturation (C\*) compared to treatments B and C, which did not differ from each other. Therefore, it can be concluded that the addition of 80 mg of canthaxanthin significantly increased ( $p \leq 0.05$ ) the value of yellowness (b\*) and skin color saturation (C\*). However, according to the results, it is justified to use a lower level of added canthaxanthin pigment of 40 mg/kg of feed mixture because this reduces the cost of production and the effect of added pigment is similar to the addition of canthaxanthin with a content of 60 mg/kg.

**Key words:** pigment, canthaxanthin, skin color, broilers

## Utjecaj dodatka kukuruza i sirutke u prahu na konzumaciju i bilancu vode u hranidbi kastriranih ovnova

Krešimir Bošnjak<sup>1</sup>, Marina Vranić<sup>1</sup>, Vilena Šuman<sup>2</sup>, Barbara Oštarić<sup>2</sup>, Kristina Starčević<sup>3</sup>, Tomislav Mašek<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (mvranic@agr.hr)

<sup>2</sup>studentica Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta

<sup>3</sup>Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Cilj rada bio je utvrditi utjecaj zamjene kukuruza sirutkom u prahu na konzumaciju, izlučivanje i balansu vode kastriranih ovnova hranjenih obrokom baziranom na sjenaži lucerne. Količina koncentrata (kukuruz + sirutka) u obroku je iznosila 30 g kg<sup>-1</sup> M<sup>0,75</sup>. Istraživana su četiri hranidbena tretmana: (i) 0 % sirutke u koncentratu; (ii) 10 % sirutke u koncentratu; (iii) 20 % sirutke u koncentratu i (iv) 30 % sirutke u koncentratu korištenjem četiri kastrirana ovna. Dodatak sirutke kukuruzu nije utjecao na količinu ukupno konzumirane vode (napajanjem i hranom), ali je smanjio količinu ukupno izlučene vode iz organizma (fecesom i urinom) (P<0,05) te povećao bilancu vode u hranidbi kastriranih ovnova (P<0,05).

**Ključne riječi:** sirutka u prahu, kukuruz, konzumacija vode, bilanca vode

### Uvod

Voda je organizmu neophodna za metaboličke procese razgradnje i apsorpcije hranjivih tvari, oslobađanje od neprobavljenih i štetnih tvari te hlađenje tijela (More i sur., 1983.). U organizam se unosi hranom i napajanjem. Kod *ad libitum* konzumacije vode, oko 20 % vode se u organizam unosi hranom, a oko 80 % napajanjem (NRC, 2001.). Visina konzumacije suhe tvari (ST) i kemijski sastav obroka, osobito sadržaj energije (Alqaizi i sur., 2019.) utječu na konzumaciju vode (More i sur., 1983.). Prema ranijim istraživanjima, kastrirani ovnovi hranjeni obrokom većeg sadržaja metaboličke energije (ME) (9.5 MJ ME kg<sup>-1</sup> ST) su konzumirali više organske tvari (OT) (62 g kg<sup>-1</sup> M<sup>0,75</sup>) i vode u usporedbi s hranidbom obrocima nižeg udjela ME (8,5 MJ kg<sup>-1</sup> ST) (Alqaizi i sur., 2019.). Suprotno, utvrđena je manja konzumacija vode koza i ovaca kod hranidbe energetske bogatijom u odnosu na energetske siromašniju krmu (Ferreira i sur., 2002.). Također, dodatak energije u obliku vlažnog zrna kukuruza sjenaži lucerne je smanjio ukupnu konzumaciju vode kastriranih ovnova (napajanjem i hranom), lučenje vode urinom te povećao lučenje vode fecesom u usporedbi s hranidbom samo sjenažom lucerne (Vranić i sur., 2020.).

Kukuruz se uobičajeno dodaje sjenaži lucerne kao izvor energije (Vranić i sur., 2018.), a sirutka u prahu je također energetska krmivo čija energetska vrijednost iznosi 10,8 – 13,3 MJ ME kg<sup>-1</sup> ST (Domaćinović, 2006.).

Hipoteza istraživanja je bila da će dodatak sirutke u prahu koncentratu baziranom na zrnu kukuruza povećati konzumaciju i bilancu vode kastriranih ovnova. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj dodatka sirutke u prahu zrnu kukuruza sirutkom na konzumaciju i bilancu vode u hranidbi kastriranih ovnova.

## Materijal i metode

Za potrebe istraživanja korištena je sjenaža lucerne prvog otkosa pokošena početkom cvatnje u svibnju 2018. godine. Pokošena biljna masa provenuta je na tlu do sadržaja ST 500-600 g kg<sup>-1</sup> svježeg usjeva, te prešana u valjkaste bale promjera 125 cm prešom "John Deere" tip 575. Bale su ovijene mrežom širine 1,2 m a zatim s četiri sloja plastične folije 50 cm širine i 0,025 mm debljine, te ostavljene fermentirati u natkrivenom prostoru pokušališta Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta Centar za travnjaštvo na Sljemeni. Za svaki, od ukupno 4 perioda istraživanja, sjenaža lucerne je u mikser prikolici sasjeckana na dužinu 3-5 cm, sabijana u plastične vreće zapremine 30 l koje su čvrsto zatvorene samoljepivom trakom te uskladištena u hladnoj komori na temperaturi od 4 °C do hranidbe.

Količina koncentrata (kukuruz + sirutka) u obroku baziranom na sjenaži lucerne je iznosio 30 g kg<sup>-1</sup> M<sup>0,75</sup>. Istraživana su 4 hranidbena tretmana: (i) 0 % sirutka, 100 % kukuruz (0SIR); (ii) 10 % sirutka, 90 % kukuruz (10SIR); (iii) 20 % sirutka, 80 % kukuruz (20SIR); (iv) 30 % sirutka, 70 % kukuruz (30SIR). U tablici 1 je prikazan kemijski sastav krmiva korištenih u istraživanju.

Tablica 1. Kemijski sastav krmiva korištenih u istraživanju (g kg<sup>-1</sup> ST ako nije drugačije navedeno)

Kemijski parametar	Krmivo		
	Lucerna	Kukuruz	Sirutka
ST	554	882	950
SP	135	66	9
Masti	16	35	0,8
OT	907	980	NA
NDV	457	131	15
Škrob	NA	614	NA
Laktoza	NA	NA	750
Energetska vrijednost Kcal	NA	NA	340
šećer	NA	NA	75

SP - sirovi proteini; OT - organska tvar; NDV - neutralna detergent vlaknina, NA - nije analizirano

## Shema istraživanja

Istraživanje je postavljeno kao change over design s četiri hranidbena tretmana i četiri kastrirana ovna.

## Pokusne životinje i provedba istraživanja

U pokusu su korištena četiri kastrirana ovna solčavsko jezerske pasmine ujednačene dobi (oko 18 mjeseci) i prosječne tjelesne mase 57 kg (54 kg - 58 kg). Životinje su po završetku svakog perioda istraživanja vagane elektronskom vagom (TRU-TEST Ltd, Model 703B). Prije početka istraživanja tretirane su protiv internih i eksternih parazita.

Uvjeti istraživanja te smještaj pokusnih životinja su ranije opisani (Vranić i sur., 2020.). Životinje su 10 dana adaptirane na hranidbeni tretman nakon čega su smještene u metaboličke kaveze u kojima su prva dva dana adaptirane na smještaj, a narednih 5 dana je utvrđivana konzumacija vode hranom i napajanjem te izlučivanje vode iz organizma fecesom i urinom. Svaki od 4 pokusna perioda je trajao 17 dana, a istraživanje je trajalo ukupno 68 dana.

Ovnovi su dnevno hranjeni u 09:00 i 15:00 sati u jednakim obrocima na način da se svaki dan osigura 10-15 % ostataka sjenaže od ponuđene količine. Dnevno je utvrđivana količina konzumirane vode sjenažom, kukuruzom, sirutkom i napajanjem te količina izlučene vode fecesom i urinom korištenjem formula:

Konzumirana voda (ml) = ponuđena količina vode - ostatak vode u pojilici

Voda konzumirana sjenažom = ponuđena voda sjenažom (ml) – ostatak vode u sjenaži (ml)

Konzumirana voda kukuruzom i sirutkom = ponuđena količina kukuruza, sirutke (ml) \* sadržaj vode u kukuruzu, sirutki (%) / 100

Voda konzumirana obrokom = konzumirana voda sjenažom (ml) + koncentratom (ml)

Ukupna konzumirana voda (ml) = konzumirana voda obrokom (ml) + napajanjem (ml)

Voda izlučena fecesom = količina izlučenog fecesa (g) \* sadržaj vode u fecesu (%) / 100

Ukupna izlučena voda (ml) = voda izlučena fecesom (ml) + urinom

Bilanca vode (ml) = ukupno konzumirana voda (ml) – ukupna izlučena voda (ml)

### Kemijske analize

U uzorcima hrane i ostataka hrane utvrđivan je sadržaj ST uzoraka ( $\text{g kg}^{-1}$  svježeg uzorka) sušenjem uzoraka u sušioniku s ventilatorom tvrtke ELE International na temperaturi od  $60^{\circ}\text{C}$  do konstantne mase uzoraka. Osušeni uzorci su samljeveni na veličinu čestica od 1 mm korištenjem mlina čekićara tvrtke Christy (Model 11) radi pripreme za kemijske analize.

Sadržaj organske tvari (OT) ( $\text{g kg}^{-1}\text{ST}$ ) uzoraka je utvrđen spaljivanjem cca 5 grama uzorka u mikrovalnoj peći (ISO 5984). Sadržaj dušika (N) je utvrđen metodom po Kjeldahl-u (ISO 5983) korištenjem jedinice za razaranje uzoraka te automatske jedinice za destilaciju/titraciju uzoraka tvrtke Gerhardt. Dobivena količina N je preračunata na sadržaj sirovih proteina (SP) ( $\text{g kg}^{-1}\text{ST}$ ) množenjem s faktorom 6,25. Sadržaj neutralnih detergent vlakana (NDV) je utvrđivan metodom Van Soest i sur. (1991.) kuhanjem uzoraka u neutralnom detergentu.

### Statistička analiza rezultata istraživanja

Dobiveni rezultati obrađeni su u statističkom programu SAS (SAS Institut, 1999.) korištenjem GLM i MIXED procedure.

### Rezultati i rasprava

Sjenaža lucerne je imala visoki sadržaj ST (Tablica 1) koji je uobičajen kod siliranja krme u bale ovijene plastičnom folijom. Kukuruz je energetska krmivo u kojem je izvor energije škrob. Zrno kukuruza je sadržavalo  $614 \text{ g škroba kg}^{-1}\text{ST}$  (Tablica 1) što je donja razina škroba u zrnu kukuruza (Grbeša, 2016.). Sirutka u prahu je energetska krmivo u kojem je izvor energije laktoza. Sadržaj laktoze od  $750 \text{ g kg}^{-1}\text{ST}$  (Tablica 1) se uklapa u prosječan sadržaj laktoze u sirutki u prahu (Schingoethe, 1976.).

U Tablici 2. su prikazani utvrđeni parametri konzumacije, lučenja i bilance vode kastriranih ovnova korištenih u istraživanju.

Tablica 2. Konzumacija, izlučivanje i bilanca vode kastriranih ovnova (u ml d<sup>-1</sup> ako nije drugačije navedeno)

Utvrđivani parametri	Hranidbeni tretman				P
	SIR0	SIR10	SIR20	SIR30	
Konzumirana voda					
Napajanje	2531	2498	2685	2547	0,581
Sjenaža	759 <sup>b</sup>	808 <sup>ab</sup>	822 <sup>a</sup>	822 <sup>a</sup>	0,045
Kukuruz	60 <sup>a</sup>	48 <sup>b</sup>	55 <sup>a</sup>	35 <sup>c</sup>	0,001
Sirutka	0 <sup>d</sup>	3 <sup>c</sup>	6 <sup>b</sup>	9 <sup>a</sup>	0,001
Koncentrat ukupno	60 <sup>a</sup>	51 <sup>b</sup>	61 <sup>a</sup>	44 <sup>c</sup>	0,001
Obrok	819	859	883	866	0,060
Ukupno konzumirano vode	3350	3357	3568	3413	0,503
Urin	1400	674	901	775	0,089
Feces	1445	1370	1321	1312	0,189
Ukupno izlučeno vode	2845 <sup>a</sup>	2044 <sup>b</sup>	2222 <sup>b</sup>	2087 <sup>b</sup>	0,046
Konzumirano/izlučeno vode (%)	85 <sup>a</sup>	61 <sup>c</sup>	62 <sup>b</sup>	61 <sup>c</sup>	0,001
Bilanca vode	505 <sup>b</sup>	1313 <sup>a</sup>	1346 <sup>a</sup>	1326 <sup>a</sup>	0,031
Potrebe za vodom podmirene napajanjem (%)	75,6 <sup>b</sup>	74,4 <sup>b</sup>	75,3 <sup>a</sup>	74,6 <sup>b</sup>	0,045
Potrebe za vodom podmirene hranom (%)	24,4	25,6	24,7	25,4	0,052

SIR0, 100 % kukuruz; SIR10, 90 % kukuruz + 10 % sirutka; SIR20, 80 % kukuruz + 20 % sirutka; SIR30, 70 % kukuruz + 30 % sirutka; P, signifikantnost; prosječne vrijednosti unutar redaka označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju (P<0,05)

Zamjena 20 % i 30 % kukuruza sirutkom u prahu je povećala konzumaciju vode sjenažom (P<0,05), a zamjena 10 %, 20 % i 30 % je povećala konzumaciju vode koncentratom (P<0,001) što nije utjecalo na ukupnu konzumaciju vode. U ranijim istraživanjima je utvrđena manja konzumacija vode koza i ovaca kod hranidbe energetske bogatijom krmom u odnosu na energetske siromašniju krmu (Ferreira i sur., 2002.) te kastriranih ovnova kod dodatka vlažnog zrna kukuruza sjenaži lucerne (Vranić i sur., 2020.).

U ovom istraživanju su životinje potrebe za vodom zadovoljile napajanjem 74,4-75,6 % što je niže od utvrđene *ad libitum* konzumacije vode napajanjem od oko 80 % u hranidbi ovaca (NRC, 2001.). Životinje su napajanjem konzumirale od 2498 do 2685 ml vode d<sup>-1</sup> što je više od utvrđene konzumacije vode kastriranih ovnova u ranijim istraživanjima koja je iznosila 2290 ml vode d<sup>-1</sup> (Ferreira i sur., 2002.) ili od 1727-1871 ml vode d<sup>-1</sup> (Vranić i sur., 2020.).

Zamjena kukuruza sirutkom u prahu smanjila je količinu ukupno izlučene vode iz organizma (fecesom i urinom) (P<0,05) te povećala bilancu vode u hranidbi kastriranih ovnova (P<0,05). U ovom istraživanju je utvrđena približno jednaka bilanca vode kod hranidbe sjenažom lucerne uz dodatak kukuruza (506 ml) u usporedbi s hranidbom samo sjenažom lucerne (550 ml vode) ili sjenažom lucerne uz dodatak 5 ili 10 grama vlažnog zrna kukuruza kg<sup>-1</sup> tjelesne mase kastriranih ovnova (479 ml d<sup>-1</sup> i 466 ml d<sup>-1</sup> tim redoslijedom) (Vranić i sur., 2020.). Konzumacija vode je ovisna o kemijskom sastavu obroka i razini konzumacije ST obroka (Alqaizi i sur., 2019.) te o sadržaju energije u obroku (More i sur., 1983.), ali i o tjelesnoj masi i kondiciji životinje (Alqaizi i sur., 2019.).

## Zaključak

Udio sirutke u prahu od 10-30 % u koncentratu baziranom na zrnu kukuruza ne utječe na ukupno konzumiranu vodu hranom i napajanjem u hranidbi kastriranih ovnova obrokom baziranim na sjenaži lucerne, smanjuje količinu ukupno izlučene vode iz organizma (fecesom i urinom) te povećava bilancu vode. S praktičnog gledišta, dodatak sirutke potiče mehanizam očuvanja vode u tijelu i smanjuje onečišćenje okoliša ekskrementima životinja.

## Literatura

- Alqaizi O., Al-Jazmi F., Al-Abri M., Al Kalaldehy M., Al-Sabahi J., Al-Marzooqi W. (2019). Effect of diet quality and shearing on feed and water intake, in vitro ruminal methane production, and blood parameters of Omani sheep. *Tropical Animal Health and Production*.
- Domaćinović M. (2006). Hranidba domaćih životinja. Poljoprivredni fakultet Osijek.
- Ferreira A. V., Hoffman L. C., Schoeman S. J., Sheirdan. R. (2002). Water intake of Boer goats and Mutton merinos receiving either a low or high energy feedlot diet. *Small Ruminant Research*. 43: 245-248.
- Grbeša D. (2016) Hranidbena svojstva kukuruza. Bc Institut d.d., Rugvica, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
- ISO (International Standard Organization) (1979). *Animal Feedstuffs*, ISO 5983., ISO 5984, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- More T., Howard B., Siebert B. D. (1983). Effect of level of water intake on water, energy and nitrogen balance and thyroxine secretion in sheep and goats. *Australian Journal of Agricultural Research*. 34 (4): 441-447.
- NRC (2001). *Nutrient requirements of Dairy Cattle*. 7<sup>th</sup> ed, National Academy press, Washington D.C.
- SAS (1999). *SAS® Software*. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA.
- Schingoethe D. J. (1976). Whey utilization in animal feeding: A summary and evaluation. *Journal of Dairy Science*. 59: 556.
- Van Soest P. J., Robertson J. B., Lewis B. A. (1991). Method for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74: 3583-3597.
- Vranić, M., Grbeša D., Bošnjak K., Mašek T., Jareš D. (2018). Intake and digestibility of sheep-fed alfalfa haylage supplemented with corn. *Canadian Journal of Animal Science*. 98 (1):135-143
- Vranić M., Bošnjak K., Krapinec K., Oštarić B., Šuman V., Kiš G. (2020) Utjecaj dodatka vlažnog zrna kukuruza sjenazi lucerne na konzumaciju i balans vode kastriranih ovnova. *Stočarstvo*. 74 (1-2):14-23.

## The effect of whey addition to maize on intake and water balance in wether sheep

### Abstract

The aim of the paper was to determine the effect of corn replacement with dried whey on water intake, secretion and water balance in wether sheep fed with alfalfa haylage. The proportion of concentrates (maize + whey) in the meal was 30 g kg<sup>-1</sup> M<sup>0.75</sup>. Four feeding treatments were investigated: (i) 0% whey in concentrate; (ii) 10% whey in concentrate; (iii) 20% whey in concentrate and (iv) 30% whey in concentrate using four wether sheep in randomized block design. Replacing maize with whey powder did not affect the amount of total water intake (by water and food), but reduced the amount of total excreted water (faces and urine) (P<0.05) and increased the water balance in wether sheep (P<0.05).

**Key words:** dried whey, corn, water intake, water balance

## Utjecaj sezone teljenja i regije na sadržaj ureje u mlijeku krava holstein pasmine

Draženko Budimir<sup>1</sup>, Vesna Gantner<sup>2</sup>, Pero Mijić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Organizacija za istraživanje, ruralni razvoj i prirodnu okolinu, Kralja Petra I Karađorđevića 125, Banja Luka, Bosna i Hercegovina, (drazenkobudimir@hotmail.com)

<sup>2</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska

### Sažetak

Cilj rada je istražiti utjecaj sezone teljenja i regije na sadržaj ureje u mlijeku holstein krava u Hrvatskoj. Istraživanjem je bilo obuhvaćeno 114 768 krava holstein pasmine u razdoblju od 01. 01. 2003. do 31. 12. 2012. godine. Ukupno je obrađeno 2 109 598 zapisa iz dnevne količine mliječnosti. Rezultati su pokazali kako se sadržaj ureje vidljivo mijenja tijekom sezone teljenja, ali utjecaj ima i sama kalendarska godina. U predmetnom istraživanju najmanje vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku zabilježene su u zimskoj sezoni 2004. godine. U jesenjoj sezoni iste godine izmjerena je najveća koncentracija ureje u mlijeku (preko 24 mg/100 ml). Nakon toga dolazi do značajnog opadanja sadržaja ureje u mlijeku u ljetnoj sezoni 2005., kada je zabilježeno 20,25 mg/100 ml. Najveće vrijednosti sadržaja ureje izmjerene su u Zadarskoj županiji, preko 26 mg/100 ml. Najmanja prosječna vrijednost izmjerena je u Varaždinskoj županiji te je iznosila ispod 19 mg/100 ml. U Osječko-baranjskoj i Karlovačkoj županiji prosječne vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku iznosile su oko 24 mg/100 ml. Zatim slijedi Vukovarsko-srijemska županija s vrijednošću sadržaja ureje oko 23,8 mg/100 ml dok sve ostale županije imaju vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku ispod 22 mg/100 ml.

**Ključne riječi:** ureja, holstein pasmina, sezona teljenja, regija

### Uvod

Sezona (godišnje doba) ima utjecaj na proizvodnju mlijeka te na promjenu koncentracije ureje u mlijeku. Tijekom ljetnog razdoblja sadržaj ukupnog dušika i pravih bjelančevina (većinom kazein) u mlijeku se smanjuje, dok se sadržaj neproteinskog dušika, koji uključuje ureju, povećava (Carlsson i sur., 1995.; Ferguson i sur., 1997.). U radu Rajala-Schultz i Saville (2003.) utvrđena je značajna interakcija između godišnjeg doba i proizvodnje mlijeka u krava držanih na paši. U niže proizvodnih grla (količina mlijeka manja od 7000 kg po laktaciji) sadržaj ureje u mlijeku bio je značajno veći tijekom ljeta. Naime, poznato je da svježja paša sadrži vrlo probavljive bjelančevine te visok odnos energije i bjelančevina (Soriano i sur., 2001.). Visoko proizvodna stada krava (kod kojih je proizvodnja iznad 10 000 kg mlijeka u laktaciji po grlu) imala su nizak sadržaj ureje upravo tijekom ljetnih mjeseci zbog smanjene konzumacije ukupne suhe tvari i bjelančevina (Rajala-Schultz i Saville, 2003.). Na osnovu istraživanja Hojmana i sur. (2004.), u mlijeku krava držanih cijele godine u staji i hranjenih kompletnim (TMR - total mix ratio) obrokom bez zelene (košene) trave, najmanje vrijednosti ureje utvrđene su upravo tijekom ljeta, pa autori pretpostavljaju da je utjecaj sezone na sadržaj ureje izravan. Rezultate slične ovima dobili su i Abdouli i sur. (2008.). Veću koncentraciju ureje u mlijeku tijekom zimskog razdoblja dobili su u svojim istraživanjima Yoon i sur. (2004.) te Jilek i sur. (2005.). Istraživanja Konjačića i sur. (2010.), provedena u Hrvatskoj, pokazuju da je sezona značajno utjecala na sadržaj ureje u mlijeku, čija je koncentracija tijekom ljeta i jeseni bila viša nego zimi i u proljeće.



Kada govorimo o okolišnim čimbenicima, kao što je utjecaj regije tad dolazimo do malo raspoloživih radova na ovu temu. Jako je malo istraživanja provedeno na temu utjecaja nehranidbenih čimbenika na sadržaj ureje u mlijeku (Eicher i sur., 1999.; Rajala-Schultz i Saville, 2003.; Arunvipas i sur., 2003.; Johnson i Young, 2003.; Hojman i sur., 2004.). Prema dostupnim istraživanjima, navedeni proizvodni i okolišni čimbenici mogu prouzročiti do 13,3 % (Arunvipas i sur., 2003.), odnosno 37 % individualnih varijacija u sadržaju ureje u mlijeku (Hojman i sur., 2004.).

Utjecaj regije dosta je kompleksan čimbenik jer predstavlja zajedničko djelovanje geografskih i klimatskih utjecaja, ali i određenih tradicionalnih načina uzgoja koji se javljaju unutar pojedinih regija. Zbog trenutnog teritorijalnog ustroja u Hrvatskoj regija predstavlja pojedinu županiju. U posljednjih nekoliko godina došlo je do povećanog uzgoja krava Holstein pasmine u pojedinim regijama.

## Materijal i metode

Predmetnim istraživanjem obuhvaćeni su zapisi sadržaja ureje u mlijeku dobiveni tijekom kontrole mliječnosti krava holštajn pasmine. Utvrđivanja mliječnosti kod analiziranih grla obavljena su redovitim mjesečnim kontrolama, AT4 ili BT4 metodom (ICAR, 2012.). Svaki je zapis životinje na kontrolni dan uključivao individualne podatke o životinji tj. njen životni broj, datum rođenja i datum posljednjeg teljenja, kao i informacije o rednom broju i stadiju laktacije, dobi kod teljenja, sezoni teljenja. U analizi su korišteni zapisi prve do desete laktacije krava. Zbog malog broja zapisa dnevnih kontrola mliječnosti, podaci osme do desete laktacije pridruženi su podacima iz sedme u jedan zajednički razred (7+). Stadij laktacije određen je brojem dana između datuma zadnjeg teljenja krave i svakog kontrolnog dana tijekom laktacije. Trajanje laktacije bilo je ograničeno na 400 dana. Prvotelke su se telile u dobi od 20 do 40 mjeseci, dok se starost krava kod drugog teljenja kretala od 32 do 56 mjeseci. Prilikom obrade podataka iz analize su izlučeni podaci kojima je nedostajao ili je nelogičan podatak o datumu rođenja, datumu zadnjeg teljenja ili datumu kontrole, te regiji. Također su izbrisane dnevne kontrole koje su došle iz nepoznatog stada te ako stado unutar iste godine ima manje od tri kontrolirane krave. Postavljene su i logične granice prihvatljivosti sukladno pravilima, standardima i smjernicama ICAR-a unutar kojih se nalaze vrijednosti za promatrano svojstvo u analizi. Uvažen je interval koncentracije ureje u mlijeku koji se kreće između 1 i 70 mg/100 ml. Zapisi gdje je sadržaj ureje izvan navedenog raspona nisu uključeni u analizu. Nakon provedene pripreme podataka za daljnju analizu korišteno je 2 109 598 zapisa dnevne količine mliječnosti od 114 768 krava koje su telile u razdoblju od siječnja 2003. do prosinca 2012. godine. Sezone teljenja podijeljene su na četiri razdoblja: zimska sezona (teljenja od prosinca do veljače), proljetna sezona (teljenja od ožujka do svibnja), ljetna sezona (teljenja od lipnja do kolovoza) i jesenska sezona (teljenja od rujna do studenog). Predmetnim istraživanjem obuhvaćene su 33 sezone teljenja od 2004. do 2012. godine.

Teritorij Republike Hrvatske podijeljen je u 20 županija (regija) i grad Zagreb. Krave Holstein pasmine uzgajaju se u 15 županija. Zbog sličnih klimatskih uvjeta i malog broja dnevnih kontrola, Šibensko–kninska, Dubrovačka i Splitsko–dalmatinska županija pridružene su Zadarskoj županiji, a grad Zagreb je združen sa Zagrebačkom županijom.

Proizvodni podaci, kao i podaci o porijeklu, prije ocjene komponenti varijance kodirani su u softverskom paketu SAS (SAS Inst. Inc., 2009.).

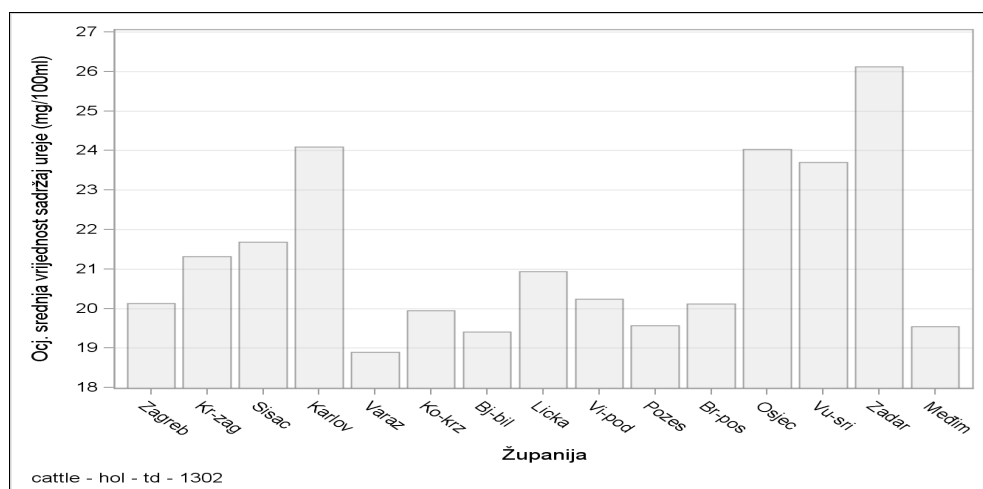
## Rezultati i rasprava

Sezona teljenja je promatrani čimbenik koji je utjecao na promjenu sadržaja ureje u mlijeku. Određene sezone teljenja utječu na proizvodnju, odnosno poznato je da prilikom visokih

temperatura dolazi do negativnog djelovanja na konzumaciju hrane. Dobiveni rezultati pokazuju na razlike sadržaja ureje u mlijeku krava Holstein pasmine od sezone do sezone. Tijekom 2004. godine zabilježene su najveće oscilacije sadržaja ureje. U zimskoj sezoni 2004. godine zabilježene su najmanje vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku, dok je u jesenskoj sezoni iste godine izmjeren najveći sadržaj ureje u mlijeku i iznosio je preko 24 mg/100 ml. Nakon toga dolazi do opadanja sadržaja ureje u mlijeku u jesenskoj sezoni 2005. godine, kada je zabilježeno 20,25 mg/100 ml. Ove razlike mogu biti posljedica različitih klimatskih prilika koje su vladale u 2005. godini. U ovom razdoblju zabilježene su visoke temperature tako da jedan od razloga ovog naglog smanjenja sadržaja ureje može biti upravo osjetljivost krava Holstein pasmine. Rajala-Schultz i Saville (2003.) su konstatairali da visoko proizvodna stada krava (kod kojih je proizvodnja iznad 10 000 kg mlijeka u laktaciji) imaju nizak sadržaj ureje upravo tijekom ljetnih mjeseci zbog smanjene konzumacije suhe tvari, odnosno smanjene probave (unosa) bjelančevina iz krme zbog previsokih temperatura. U istraživanju je uočen je nagli pad vrijednosti sadržaja ureje između jesenske sezone 2004. i zimske sezone 2005. godine. Nizak sadržaj ureje također je zabilježen u ljeto i jesen 2005., a zatim u zimskom razdoblju dolazi do blage stabilizacije. Slična iskustva potvrđuju i Hojman i sur. (2004.) kod krava koje su držane cijele godine u staji i hranjene kompletnim obrokom bez zelene (košene) trave. Budući da su krave Holstein pasmine dosta osjetljivije na utjecaj visoke temperature, odnosno jače reagiraju na klimatske promjene i to u obliku smanjenja konzumacije hrane, a samim time smanjuje se količina proizvedenog mlijeka te ureja u mlijeku. Kod krava koje su telile tijekom 2006. vidljiv je nešto viši sadržaj ureje u mlijeku, a ovaj trend je nastavljen sve do kraja 2007. godine (23,8 mg/100 ml) uz blagi pad koji je zabilježen između ljetne i jesenske sezone.

Maksimalna vrijednost sadržaja ureje je zabilježena u zimskoj sezoni 2008. godine, a iznosila je 24 mg/100 ml. U narednim sezonama dolazi do opadanja sadržaja ureje u mlijeku. Najniže vrijednost sadržaja ureje u mlijeku u promatranom razdoblju izmjerene su tijekom ljeta 2011. godine, a iznosile su oko 20 mg/100 ml. Ovo odstupa od istraživanja, Carlsson i sur., 1995.; Ferguson i sur., 1997.; Hojman i sur., 2004. i Konjačić i sur. 2010. gdje je utvrđen značajan povećan sadržaj ureje u mlijeku tijekom ljednih mjeseci.

Utjecaj regije (Županije) predstavlja zajedničko djelovanje geografskih i klimatskih utjecaja, ali i međusobnih tradicijskih razlika. Županije se, pored klimatskih karakteristika, međusobno razlikuju i načinom uzgoja goveda. Županije se isto tako razlikuju i po broju i veličini farmi, a i opremljenosti istih. U Grafikonu 1 prikazane su prosječne vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku po različitim Županijama u Republici Hrvatskoj.



Grafikon 1. Ocijenjena prosječna vrijednost sadržaja ureje po regiji

Najveće vrijednosti sadržaja ureje izmjerene su u Zadarskoj županiji, preko 26 mg/100 ml, a uzrok ovako povećane vrijednosti može biti i u tome jer se u ovoj županiji nalaze samo dvije suvremene farme. Najmanja prosječna vrijednost izmjerena je u Varaždinskoj županiji te je iznosila ispod 19 mg/100 ml. U Osječko–baranjskoj i Karlovačkoj županiji prosječne vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku iznosile su oko 24 mg/100 ml. Zatim slijedi Vukovarsko–srijemska županija s prosječnom vrijednošću sadržaja ureje oko 23,8 mg/100 ml. Sve ostale županije imaju prosječnu vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku ispod 22 mg/100 ml. Vrijednosti prosječnog sadržaja ureje oko 21 mg/100 ml izmjerene su u Krapinsko–zagorskoj i Sisačko–moslavačkoj županiji, dok je ova vrijednost neznatno ispod 21 mg/100 ml kod krava Holstein pasmine koje se drže u Ličko–senjskoj županiji.

Kod krava koje se uzgajaju u Zagrebačkoj, Koprivničko–križevačkoj, Virovitičko–podravskoj i Brodsko–posavskoj županiji vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku kretale su se oko 20 mg/100 ml, a u Bjelovarsko–bilogorskoj, Požeškoj i Međimurskoj županiji zabilježene su prosječne vrijednosti ureje u mlijeku između 19 i 20 mg/100 ml.

### Zaključak

Sezona teljenja je okolišni čimbenik koji utječe na varijabilnost sadržaja ureje u mlijeku. Određene klimatske sezone utječu na svojstva mliječnosti, odnosno, poznato je kako visoke temperature negativno djeluju na konzumaciju hrane. Dobiveni rezultati pokazuju različite sadržaje ureje u mlijeku krava Holstein pasmine ovisno o sezoni teljenja.

Regija je dosta kompleksan čimbenik jer predstavlja zajedničko djelovanje geografskih i klimatskih utjecaja, ali i određenih tradicionalnih načina uzgoja koji se javljaju unutar istih.

Na proizvodnju mlijeka imaju i različiti pristupi pojedinih uzgajivača, s obzirom na njihovu educiranost u pogledu uzgoja krava. Krave Holstein pasmine imaju i povećane zahtjeve za kvalitetnom krmom koju nije moguće proizvesti na različitim zemljišnim profilima.

### Literatura

- Abdoul H., Rekik B., Haddad-Boubaker A. (2008). Non-nutritional factors associated with milk urea concentrations under Mediterranean conditions. *World Journal of Agricultural Sciences*. 4 (2): 183-188.
- Arunvipas P., Dohoo I. R., Van Leeuwen J. A., Keefe G. P. (2003). The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen in dairy cows in Prince Edward Island, Canada. *Journal of Veterinarian Medicine*. 59: 83-93.
- Carlson J., Bergstrom J., Pehrson B. (1995). Variations with breed, age, season, yield, stage of lactation, and herd in the concentration of urea in bulk milk and individual cow milk. *Acta Veterinaria Scandinavia*. 36: 245-254.
- Eicher R., Bouchard E., Bigras-Poulin M. (1999). Factors affecting milk urea nitrogen and protein concentrations in Quebec dairy cows. *Previous Veterinarian Medicine*. 39: 53-63.
- Ferguson J. D., Thomsen N., Vecchiarelli B., Beach J. (1997). Comparison of BUN and MUN tested by different methods. *Journal of Dairy Science*. 80 (1): 161.
- Hojman D., Kroll D., Adin G., Gips M., Hanochi B., Ezra, E. (2004). Relationships between milk urea and production, nutrition, and fertility traits in Israeli dairy herds. *Journal of Dairy Science*. 87: 1001-1011.
- ICAR – International Committee for Animal Recording (2012). Guidelines approved by the General Assembly held in Cork, Ireland, June 2012.
- Jilek F., Štipkova M., Fiedlerova M., Rehak D., Volek J., Nemcova E. (2005). Differences in milk urea content in dependency on selected non-nutritive factors. *56<sup>th</sup> Annual Meeting of the EAAP*, Uppsala, Sweden.

- Johnson R. G., Young A. J. (2003). The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*. 86: 3008-3015.
- Konjačić M., Kelava N., Ivkić Z, Ivanković A., Prpić Z., Vnučec I., Ramljak J., Mijić P. (2010). Non-nutritional factors of milk urea concentration. *Mljekarstvo*. 60 (3): 166-174.
- Rajala-Schultz P. J., Saville W. J. A. (2003). Sources of variation in milk urea nitrogen in Ohio dairy herds. *Journal of Dairy Science*. 86: 1653-1661.
- SAS, Inst. Inc 2001. Version 8.2. Cary,NC, SAS Institute Inc.
- Soriano F. D., Polan C. E., Miller V. N. (2001). Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration diet. *Journal of Dairy Science*. 84: 2460-2468.
- Yoon J. T., Lee J. H., Kim C. K., Chung Y .C., Kim C. H. (2004). Effects of milk production, season, parity and lactation period on variations of milk urea nitrogen concentration and milk components of Holstein dairy cows. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 17: 479-484.

## **The influence of the calving season and the region on the content of urea in milk in cows of the Holstein breed**

### **Abstract**

The aim of the paper is to investigate some environmental factors, the calving season and the influence of the region on the content of milk urea in cows in Croatia. The survey included 114 768 cows of the Holstein breed between 01 January 2003 and 31 December 2012. A total of 2 109 598 records from the daily amount of milkiness were processed. The results showed that the content of the urea changes visibly during the calving season, but the calendar year itself has an impact. In the study in the study, the lowest values of the content of urea in milk were recorded in the winter season in 2004. In the autumn season of the same year, the highest concentration of urea in milk (over 24 mg/100 ml) was measured. This was followed by a significant decrease in the content of urea in milk in the summer season of 2005, when 20.25 mg/100 ml was recorded. The highest values of the content of the urea were measured in Zadar County, over 26 mg/100 ml. The minimum average value was measured in Varaždin County and was below 19 mg/100 ml. In Osijek-Baranja and Karlovac Counties, the average values of urea content in milk were about 24 mg/100 ml. Next comes Vukovar-Srijem County with a value of about 23.8 mg/100 ml of urea content. All other counties have values of the urea content in milk below 22 mg/100 ml.

**Key words:** regulates, holstein pasmina, season of calves, region

## Konjički svijet tijekom pandemije COVID-a

Iva Bunić, Tihomir Živić, Maja Gregić, Tina Bobić, Pero Mijić, Mirjana Baban

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska  
(mirjana.baban@fazos.hr)*

### Sažetak

Rad razmatra razliku koronavirusne bolesti u ljudi (COVID-19) i u konja (ECoV), dajući odgovor na pitanje mogu li konji prenijeti zarazu na čovjeka i kakvu bi ulogu, na osnovi proučavanja najnovijih znanstvenih spoznaja s tim u vezi, konji mogli imati i pri pronalasku lijeka za humanu koronavirusnu bolest. Budući da su obje navedene virusne bolesti vrlo zarazne te da je za njih, do pronalaska adekvatnih cjepiva, preporučeno primarno liječenje simptoma te samoizolacija i karantena potvrđenih slučajeva kako bi se spriječilo njihovo daljnje širenje, rad navodi i određena iskustva te daje savjete o tome kako samoodrživo poslovati i skrbiti o konjima i u izazovno doba pandemije.

**Ključne riječi:** COVID-19, ECoV, COVID-EIG, skrb o konjima, pandemija

### Uvod

Budući da se humani COVID-19, koji se prenosi zrakom ili dodiranjem zaraženih površina, dijagnosticira analizom uzorka krvi i brisom nosa ili grla, a simptomi mu od blagih, poput kašlja, kratkoće daha i vrućice, mogu prerasti u smrtonosne (U.S. Department of Health and Human Services, 2020.), postoje određene sličnosti i bitne razlike u odnosu na konjski ECoV, koji se dijagnosticira s pomoću fekalnoga uzorka, prenosi kontaktom s izmetom, a manifestira simptomima vrućice, nedostatkom apetita, konjskom depresijom, kolikama i proljevom (Equine Disease Communication Center, 2020.).

Konjski ECoV uglavnom ugrožava ždrjebad, iako je njegova pojavna infektivna učestalost zasada niska, manifestira se upalom tankoga crijeva u zaražene ždrjebadi, no može prouzročiti sklonost i drugim bolestima probavnoga trakta u ždrjebadi. ECoV se prenosi fekalno-oralno, odnosno kada izmet zaraženoga konja izravno hranom ili putem kontaminiranih predmeta i površina dospije do usta dotada zdrave životinje.

Kada je pak riječ o odraslim životinjama, sustavno znanstveno praćenje postojanja ECoV-a u konja tek je novijega nadnevka, a bolest se, nakon inkubacijskoga razdoblja od dva do četiri dana, obično manifestira kao blaža infekcija, iako, kao i u ljudi, može završiti komplikacijama (primjerice pojavom dehidracije, gubitkom bjelančevina, neurološkim smetnjama i ležanjem, koje s vremenom prerasta u nemogućnost stajanja), pa i smrtnim ishodom. Ipak, većina konja je asimptomatska i ne pokazuje kliničke znakove bolesti (anoreksiju, depresiju, letargiju, nedostatak teka, vrućicu te, u pojedinačnim slučajevima, dijareju i nizak broj leukocita), oporavlja se i bez veterinarskoga tretmana, a pojavnost zaraze zahvaća manje od jednoga od deset konja.

Iako se ECoV uspješno dijagnosticira fekalnim uzorkom, trenutačno veterinarsko liječenje je nespecifično i podrazumijeva samo potporne antiinflamatorne i likvidne tretmane. Unatoč tomu, pravodobna dijagnostika koristi razumijevanju tijeka ove bolesti te može praktično usmjeriti nadzor infekcije na ergelama i različitim konjičkim centrima. Održavanje higijene

objekata i pravilno odlaganje stajskog gnoja stoga pomaže smanjenju širenja zaraze između drugih konja.

Međutim, gospodarstvene posljedice ugroženosti ovom pandemijom bit će nedvojbeno dalekosežnije, no dragocjena iskustva stečena tijekom oporavka mogu biti putokaz budućim naraštajima glede sigurnijega i stabilnijeg poslovanja.

## Materijal i metode

U sklopu svojega istraživanja o skrbi za konje tijekom pandemije koronavirusne bolesti, koja predstavlja svojevrsno izvanredno stanje, postavili smo pitanje o postojanju dokaza glede prijelaza koronavirusa s konja na čovjeka i obrnuto. Proučavanjem dostupnih izvora zaključili smo da takve indicije nisu potkrijepljene (Ontario Animal Health Network, 2020.), odnosno da konji ne mogu biti zaraženi humanom koronavirusnom bolešću (COVID-19), ali da je nužno pridržavanje propisane metodologije tijekom boravka uz konja i da je preporučljivo poduzimanje mjera koje doprinose općoj sigurnosti u zajednici.

U svrhu očuvanja zdravlja i smanjenja rizika od širenja koronavirusne bolesti, ljudi sa simptomima SARS-CoV-2 trebaju, dakle, biti posebno epidemiološki oprezni i ostati u samoizolaciji, uz primjenu svih higijenskih mjera. To se posebice odnosi na dezinfekciju ruku i dodirnih površina te na uporabu vlastite opreme za konjički sport kadgod je to moguće.

U praksi se posebice bitnim pokazala nužnost metodičkoga izbjegavanja aktivnosti koje bi predstavljale mogućnost lakoga nastanka ozljeda, pogotovo u doba u kojem su bolnički kapaciteti ionako preopterećeni zbog skrbi o pacijentima oboljelima od COVID-a.

Naposljetku, glede skrbi za konja, istraživanje je potvrdilo važnost sljedećih mjera poduzetih u svrhu sprječavanja zaraze koronavirusnom bolešću:

- fizički smanjiti broj posjetitelja nazočnih na jednome mjestu, a pogotovo spriječiti izravan doticaj osoba zaraženih COVID-om s konjima
- pridržavati se svih preskriptivnih epidemioloških i higijenskih mjera prije napuštanja staje (nošenje maski, dezinfekcija ruku i opreme minimalno dvaput dnevno, uz osobiti naglasak na čistoću kanti za vodu i hranilica)
- voditi računa o socijalnome distanciranju uključenih osoba, pa i tijekom treniranja
- podesiti unos energije (to jest konzumiranu količinu i vrstu obroka) smanjenom intenzitetu treninga
- dokumentirati alternativni plan skrbi za konja u slučaju zaraze koronavirusnom bolešću, samoizolacije ili hospitalizacije određene životinje
- razviti plan o minimalnome broju nužnoga stajskog, jahački i komunikacijski obučenoga osoblja koje će se skrbiti o životinjama kako bi se minimizirala mogućnost nastanka disajnih i mišićnih tegoba u konja izazvanih predugim boravkom u zatvorenome prostoru
- osigurati konjima dostatnu količinu koncentrata te dostupnost vode, sijena i stelje za razdoblje do dva tjedna.

## Rezultati i rasprava

Razmatrajući opći gospodarstveni opstanak konjogojstva u doba pandemije koronavirusne bolesti, autori su analizirali činjenice da dolazi do velikih financijskih teškoća, pri čemu pojedini vlasnici konja u ozračju izgledne recesije više ne mogu zadržati svoje kapacitete i ne mogu pružiti adekvatnu skrb svojim životinjama. Usto, konjička je zajednica, u svrhu

očuvanja općega zdravlja tijekom lockdowna, bila primorana onemogućiti nazočnost gledateljstva na manifestacijama, a pojedina su događanja u cijelosti otkazana (primjerice Olimpijada i Paraolimpijada sve do 2021. godine).

Ipak, prvi je val koronavirusne bolesti konjičku zajednicu pogodio u vrlo nezgodnome trenutku pripreme natjecateljske sezone, pa je pristup mnogim stajama stoga bio stoga otežan ili posve onemogućen. Kao pozitivne trendove i oprjeku rizicima valja svakako istaknuti razmjerno brzu prilagodbu uzgajivača i veterinarara, koji su uspjeli razviti posebne protokole glede zbrinjavanja životinja i u ovim uvjetima, pri čemu se prodaja konja preselila u internetski medij, a sve češća je i uporaba mrežnih audiovizualnih sadržaja i multimedijских platformi za prijenos trenerskih videozapisa mladim jahačima, kao i prijenosi konjičkih natjecanja putem društvenih mreža i televizije.

Međutim, neodmjenjivom u svrhu sprječavanja infekcije se pokazala važnost pravodobnih i točnih informacija i kreativne edukacije o koronavirusnoj bolesti i u ljudi i u konja.

Najzad, kada je riječ o potencijalno negativnim gospodarstvenim učincima na konjički sport, moguće je predvidjeti sljedeće scenarije:

- smanjenje izdvajanja tvrtki za oglase i sponzorstva konjičkih utrka
- povećanje troškova „hladnoga pogona“ (primjerice za udomljavanje konja, troškove hrane i drugo)
- pojačan rizik vezan uz putovanja na konjička natjecanja i neminovno povećana cijena smještaja, ali i ograničavanje putovanja i sudjelovanja na međunarodnim konjičkim natjecanjima ovisno o epidemiološkoj situaciji u dotičnoj državi
- posljedično smanjenje broja gledatelja na elitnim konjičkim događanjima.

Navedene smo aspekte u okvirima Republike Hrvatske istražili intervjuima, i to na primjeru djelatnosti i poslovanja Državne ergele Lipik, Državne ergele Đakovo i Konjičkoga kluba Osijek (D. Jakšić, osobna komunikacija, 17. lipnja 2020.; K. Čorić, osobna komunikacija, 17. lipnja 2020.; N. Knežević, 4. rujna 2020.), dakle iz upraviteljskoga i dresurno-jahačkog rakursa.

Državna ergela Lipik, koja broji 90 konja, također je bila primorana anulirati planirane organizirane skupne posjete i svoje nastupe na sajmovima i drugim događanjima, otkazala je i svečano obilježavanje svojega Dana 6. lipnja 2020. i ovisnija je o donacijama negoli ikada ranije, a poseban problem predstavljala bi nemogućnost izvoza i prodaje konja dođe li zbog epidemioloških razloga do ponovnoga šireg zatvaranja granica unutar Europske unije (Kairat, 2020.; Jones, 2020.; Murray, 2020.). Najvećim izazovom u razdoblju „nove normalnosti“ Državna ergela Lipik smatra organizaciju turističkoga obilaska većih skupina uz pridržavanje nužne socijalne distance i pridržavanje svih epidemioloških mjera u stajama, a veseli vijest o neprekinutome održavanju treninga i ždriježbljenju.

I Državna ergela Đakovo sve ovo vrijeme jednakim marom skrbi o 166 konja svih uzrasta, pružajući im, osim hranidbe i timarenja, i pedesetminutni individualni trening, kojima se dapače posvećuje i više pozornosti negoli prije pandemije, pa je mrežnom suradnjom s trenericom iz Ujedinjenoga Kraljevstva sada moguće ispraviti i neke dosadašnje problematične elemente. No, nedostatak pravoga sudačkog natjecateljskog naputka, prema kojemu bi se modulirao trening, jest evidentan. Konjički klub Osijek je morao otkazati dva proljetna preponska turnira, ali je zato održao jedan dresurni i jedan preponski u jesenskom terminu. Značajno je napomenuti i da je 7. savjetovanje uzgajivača konja zbog pandemije COVID-a održano po prvi puta kao web konferencija u Hrvatskoj (6.11.2020.), i to vrlo uspješno.

## Zaključak

Autori ističu kako je pregled dostupnih izvora pokazao da su mrežne edukacije u području konjičkoga sporta bile dostupne i prije izbijanja pandemije koronavirusne bolesti, no sada su prepoznate kao iznimno korisno oruđe, a nerijetko i kao jedini način prikaza djelatnosti, pronalaska klijentele i prikupljanja donacija.

Multimedijski se mrežni sadržaji često nude i kao posve besplatna predavanja, radionice i tečajevi, uz one za koje valja izdvojiti određeni iznos naknade, a elementi edukacijske izobrazbe nude se i kao audiovizualni isječci i videozapisi prilagođeni i najmlađim naraštajima budućih korisnika. Dapače, polaznici takvih mrežnih obuka, primjerice o ponašanju konja ili sigurnosti u konjičkome sportu, mogu primiti certifikat kao potvrdu usvojenosti novih sadržaja.

U novije vrijeme dostupne su i sljedeće mogućnosti:

- virtualni trening jahača, uglavnom formalni i nerekrativni kao u Ujedinjenome Kraljevstvu (Murray, 2020.) za trenutačnoga novog lockdowna, pri čemu videozapis pregledavaju sudci osvrćući se na performans i tehničke aspekte nastupa
- besplatni informativni sveučilišni mrežni tečajevi s pojednostavljenim gradivom prve godine Veterinarskoga fakulteta, pri čemu se polaznici mogu upoznati s institucijom i profesijom te odlučiti žele li se njome ubuduće baviti
- neformalna mrežna umrežavanja i edukacije putem društvenih platformi, uz razmjenu iskustava.

Konačno, sa zadovoljstvom zapažamo i moguću ulogu konja kao testnih životinja glede pronalaska mogućega lijeka za koronavirusnu bolest, na čemu se u znanstvenome svijetu zdušno radi još od početka izbijanja ove krize i širenja pandemije COVID-a. Tako je još 11. ožujka 2020. objavljeno da je također pokrenut razvoj dvaju kandidata za sprječavanje i liječenje koronavirusne bolesti u ljudi, od kojih je jedan, nazvan COVID-EIG, proizveden iz plazme imuniziranih konja, s antitijelima na SARS-CoV-2, pa bi, prema kliničkim studijama od trećega tromjesečja 2020., bio namijenjen samo teškim hospitaliziranim slučajevima (Emergent BioSolutions, 2020.).

## Literatura

- Emergent BioSolutions. (2020). Emergent BioSolutions Initiates Development of Plasma-Derived Product Candidates for the Treatment and Prevention of Coronavirus Disease. <https://investors.emergentbiosolutions.com/news-releases/news-release-details/emergent-biosolutions-initiates-development-plasma-derived>.
- Equine Disease Communication Center. (2020). Coronavirus Disease Resources and Updates. <https://equinediseasecc.org/coronavirus-resources>.
- Jones, E. (2. studenoga 2020.). Horse Sport Shutdown Looks Inevitable as Second Lockdown Announced. Horse & Hound. <https://www.horseandhound.co.uk/news/horse-sport-shutdown-looks-inevitable-as-second-lockdown-announced-729280>.
- Kairat, S. Lockdown: Was ab Montag im Reitsport erlaubt ist, und was nicht. Münsterland Zeitung. <https://www.muensterlandzeitung.de/lokalsport-ahaus/lockdown-was-ab-montag-im-reitsport-erlaubt-ist-und-was-nicht-1570177.html>. (1. studenoga 2020).
- Murray, B. Lockdown Update: Clarification Provided for Riding Schools. Horse & Hound. <https://www.horseandhound.co.uk/news/lockdown-update-clarification-provided-for-riding-schools-730420>. (12. studenoga 2020.).
- Ontario Animal Health Network. (2020). COVID-19: Caring for your Horse During a Pandemic. <https://www.oahn.ca/resources/covid-19-caring-for-your-horse-during-a-pandemic/>.



U.S. Department of Health and Human Services. Symptoms of Coronavirus. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. (13. svibnja 2020.).

## **Equestrian World during the COVID Pandemic**

### **Abstract**

The paper examines the difference between the coronavirus disease in humans (COVID–19) and horses (ECoV). It provides a response to the issue of whether the horses are capable of transferring the contagion to a human and what role horses might have in finding out a medicine for the human coronavirus disease, based upon a study of the most recent scientific discoveries in this respect. Since both viral diseases are very contagious and primary symptomatic treatment, self-isolation, and quarantine of the confirmed cases is recommended up to a discovery of adequate vaccines to prevent their further expansion, the paper also quotes certain experiences and provides advice on how to do business self-sustainably and take care about the horses even in the challenging times of the pandemic.

**Key words:** COVID–19, ECoV, COVID-EIG, horse care, pandemic

## Značaj utemeljenja nacionalne mreže animalnih banki gena

Mato Čačić<sup>1</sup>, Marica Dražić<sup>1</sup>, Nina Karapandža<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, Ulica grada Vukovara 78, 10000 Zagreb, Hrvatska (mato.cacic@mps.hr)

### Sažetak

Kroz povijest je stvoren velik broj izvornih (lokalnih) pasmina prilagođenih na okolišne čimbenike, a koje su kontinuirano potiskivane od visokoproizvodnih pasmina. Globalnim prepoznavanjem nužnosti očuvanja biološke (genetske) raznolikosti započinju intenzivni naponi na očuvanju izvornih pasmina. U Republici Hrvatskoj izrađen je 2010. godine nacionalni program očuvanja kojim su stvoreni preduvjeti za osnivanje banke animalnih gena. Ministarstvo poljoprivrede, preuzimanjem pravne stečevine Europske unije pristupa izradi novog nacionalnog programa očuvanja kojim se stvaraju preduvjeti za utemeljenje nacionalne mreže banki animalnih gena s ciljem intenziviranja aktivnosti krioprezervacijskih programa izvornih pasmina domaćih životinja.

**Ključne riječi:** animalna banka gena, nacionalna mreža, nacionalni program, Hrvatska

### Uvod

Odabir visokoproduktivnih pasmina domaćih životinja za intenzivne proizvodne sustave uvjetovan je socijalnim i okolišnim, ali najviše ekonomskim čimbenicima u proizvodnji hrane. Doprinos lokalno razvijenih pasmina u proizvodnji hrane kontinuirano se smanjuje intenzifikacijom proizvodnje, čime prijete njihovom opstanku (Oldenbroek, 1999.). Veća pozornost usmjerava se na genetsku raznolikost domaćih životinja jer selekcijski pritisak reducira genetsku raznolikost, stoga politika očuvanja biološke raznolikosti kao ključni cilj ima zaustavljanje ili usporavanje gubitka genetske varijabilnosti (Leroy i sur. 2018.).

Kroz stoljeća stvorene su brojne lokalne, nacionalne i međunarodne pasmine domaćih životinja, a koje su važne zbog specifičnosti pasminskih obilježja vanjštine, proizvodnih sposobnosti ili adaptivnosti na okoliš (ERFP, 2003.). Potrebe za povećavanjem proizvodnje hrane te primjena novih tehnologija (selekcija, umjetno osjemenjivanje), rezultirali su smanjenjem efektivne veličine populacija najvažnijih pasmina domaćih životinja koje rijetko prelaze nekoliko stotina jedinki, usprkos njihovim često brojnim populacijama na globalnoj razini (Leroy i sur., 2013.). Genetska erozija rezultira gubitkom pasmina ili dovođenjem u opasnost od izumiranja, stoga su na globalnoj i lokalnoj razini potrebna brza i uspješna rješenja podržana strateškim planiranjem i korištenjem novih tehnologija (Bruford i sur., 2015.) u sprječavanju gubljenja biološke raznolikosti (FAO, 2015.; Pizzi i sur., 2016.).

Animalna proizvodnja je vitalno značajna za čovječanstvo, stoga je očuvanje genetske raznolikosti u populacijama životinja nužno u osiguravanju njihove budućnosti obzirom na sadašnju varijabilnost i buduću nesigurnost klime i okoliša (Barker, 2001.). Očuvanje genetskih resursa je odgovornost svakog naroda, stoga su mnoge zemlje prepoznale važnost praćenja i očuvanja animalnih genetskih resursa (Čačić i sur., 2015.).

Hrvatske izvorne pasmine domaćih životinja su nacionalno genetsko bogatstvo o čijem se očuvanju i unaprjeđenju vodi briga gotovo tri desetljeća, a u programe očuvanja uložen je veliki stručni rad i financijska sredstva kroz sustav državnih potpora (Čačić i sur., 2017.).

Izvorne i zaštićene pasmine domaćih životinja potrebno je sustavno pratiti kroz stupanj ugroženosti i efektivne vrijednosti odnosno broj životinja koje čine nukleus pasmine kao predmet trajne zaštite u pogledu očuvanja specifične genetske vrijednosti (Caput, 2007.).

Svaka zemlja razvija nacionalnu strategiju i politiku očuvanja životinjskih genetski resursa prije dizajniranja nacionalnog krioprezervacijskog programa. Stvaranje nacionalnih banki gena kojima je cilj pohrana tjelesnih (somatskih) stanica jedan je od odgovora na brzi gubitak animalnih genetskih resursa (Groeneveld, 2007.). U odnosu na prikupljanje i skladištenje generativnih stanica (sjeme, jajne stanice i embriji), prikupljanje i skladištenje somatskih stanica može se provesti uz manje troškove i u kratkom vremenu, za sve životinjske vrste.

Cilj ovog rada je predstaviti buduću nacionalnu organizacijsku shemu očuvanja izvornih pasmina domaćih životinja obzirom na prihvaćanje pravne stečevine Europske unije.

#### Nacionalni program očuvanja izvornih pasmina domaćih životinja

Prvi nacionalni program, naslova *Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj* donijela je Vlada Republike Hrvatske 2010. godine (MP RH, 2010.). Preuzimanjem Uredbe o uzgoju životinja (SL L 171, 29. 6. 2016.), Hrvatski sabor donio je Zakon o uzgoju domaćih životinja (NN 115/2018.) (dalje u tekstu: Zakon o uzgoju). Pravna osnova za donošenje novog nacionalnog programa naslova „*Nacionalni programa izvornih i ugroženih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj 2021.-2025.*“ (dalje u tekstu: Nacionalni program) je članak 14. Zakona o uzgoju, a koji obuhvaća 9 vrsta i 35 izvornih pasmina domaćih životinja, i to: 4 pasmine konja, 3 magaraca, 3 goveda, 9 ovaca, 3 koza, 3 svinja, 2 peradi, 1 pčela i 7 pasmina pasa.

#### Banka gena domaćih životinja Republike Hrvatske

Osnivanje Banke gena domaćih životinja Republike Hrvatske (dalje u tekstu i: BAG) provedeno je sukladno globalno prepoznatoj potrebi za stvaranje veće sigurnosti programa očuvanja izvornih pasmina domaćih životinja (Čačić i sur., 2015.). Pravni temelj za osnivanje BAG bio je Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj (MP RH, 2010.).

BAG je osnovala Hrvatska poljoprivredna agencija (HPA) 2012. godine u čijem je ustrojstvu djelovala do 1. siječnja 2019. godine. U procesu reorganizacije institucionalnog sustava u poljoprivredi na nacionalnoj razni, HPA je prestala postojati, a BAG je ustrojstveno postaje dio Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske. Službeno je BAG započela s radom s početkom 2013. godine. Od osnivanja do 1. studenog 2020. godine deponirano je 25479 bioloških uzoraka od 6 vrsta i 58 pasmina domaćih životinja (Tablica 1).

U 2018. godini kroz projekt u Podmjeri 10.2. "Potpora za očuvanje, održivo korištenje i razvoj genetskih izvora u poljoprivredi" Programa ruralnog razvoja Republike Hrvatske, izgrađen je i opremljen novim uređajima prostor Banke gena s pripadajućim laboratorijem.

#### Značaj priznatih uzgojnih udruženja u očuvanju izvornih pasmina

Poglavljem II. Zakona o uzgoju omogućena je veća samostalnost uzgojnih udruženja, ali i odgovornost u provedbi odobrenih uzgojnih programa Svoj su rad s odredbama Zakona o uzgoju uskladila 22 uzgojna udruženja i time stekla status *priznatog uzgojnog udruženja*.

Priznata uzgojna udruženja izvornih pasmina domaćih životinja provedbom odobrenog uzgojnog programa izravno rade na njihovom očuvanju. Sukladno članku 11. Zakona o

uzgoju stvoren preduvjet da priznata udruženja u očuvanju svojih pasmina djeluju na višoj stručnoj razini i izravno u Nacionalnom programu kroz mogućnost osnivanja *priznate banke gena*, čime se želi intenzivirati pohrana biološkog materijala izvornih pasmina s ciljem njihovog uspješnijeg očuvanja, a što će se ostvariti i kroz dobivanje više informacija potrebnih za dizajniranje konzervacijskih programa.

Tablica 1. Struktura i broj bioloških uzoraka pohranjenih u Banku gena domaćih životinja Republike Hrvatske od 1. siječnja 2013. do 1. studenog 2020. godine

Vrsta	Skupina pasmina	Broj pasmina	Tip biološkog tkiva				Ukupno
			dlaka	tkivo	krv	sperma	
govedo	izvorne	3	1394	2073	108	6345	9920
	ostale	15	81	157	-	6154	6392
	<i>Ukupno:</i>	<i>18</i>	<i>1475</i>	<i>2230</i>	<i>108</i>	<i>12499</i>	<i>16312</i>
ovca	izvorne	9	349	2774	-	-	3123
	<i>Ukupno:</i>	<i>9</i>	<i>349</i>	<i>2774</i>	-	-	<i>3123</i>
	izvorne	3	20	330	-	-	350
koza	ostale	3	-	7	-	40	47
	<i>Ukupno:</i>	<i>6</i>	<i>20</i>	<i>337</i>	-	<i>40</i>	<i>397</i>
	izvorne	3	804	1689	61	-	2554
svinja	ostale	1	86	175	0	-	261
	<i>Ukupno:</i>	<i>4</i>	<i>718</i>	<i>1514</i>	<i>61</i>	-	<i>2293</i>
	izvorne	3	1123	-	-	-	1123
magarac	ostale	1	76	-	-	-	76
	<i>Ukupno:</i>	<i>4</i>	<i>1199</i>	-	-	-	<i>1199</i>
	izvorne	2	1545	-	-	-	1545
konj	ostale	15	349	-	-	-	349
	<i>Ukupno:</i>	<i>17</i>	<i>1894</i>	-	-	-	<i>1.894</i>
	<i>Sveukupno:</i>	<i>58</i>	<i>5741</i>	<i>7030</i>	<i>169</i>	<i>12539</i>	<i>25479</i>

#### Uloga nacionalnih mreža banki gena

Većina zemalja u Europi je razvila *ex situ in vitro* strategije banki gena (Hiemstra i sur., 2014.). Uspješan program krioprezervacije zahtjeva preživljavanje germplazme kroz postupke zamrzavanja, čuvanja i odmrzavanja kako radi očuvanja visoke uspješnosti stvaranja potomstva koje će predstavljati potpunu raznolikost populacije donora. Banke gena deponiraju postojeću raznolikost domaćih životinja, uzimajući u obzir prijetnje opstanku pojedine pasmine i stupanj erozije genetske raznolikosti. Međutim, banke gena ne treba promatrati samo kroz prizmu čuvanja uzorka, nego banke gena trebaju sudjelovati u razvoju biotehnologija i bioinformatike s ciljem boljeg poznavanja i korištenja životinjskih genetskih izvora (Hiemstra i sur., 2019.). Ključni čimbenik u upravljanju i očuvanju genetskih resursa izvornih pasmina je integracija i dostupnost informacija potrebnih za praćenje demografskih parametara te dizajniranje planova očuvanja ciljanih populacija.

Uloga priznatih banki gena koje mogu osnovati uzgojna udruženja i druge pravne osobe uključene u provedbu uzgojnih programa je prikupljanje, pohrana i manipulacija uzorcima prema protokolima koji su istovjetni za sve sastavnice mreže banke gena. Obzirom da sve sastavnice nacionalne mreže trebaju homogeno raditi i prema protolima, obvezu izrade i kontrolu provedbe protokola ima BAG kao središnje mjesto nacionalne mreže banke gena.

Nacionalna mreža banke gena domaćih životinja Republike Hrvatske

Pravni okvir za osnivanje Nacionalne mreže banke gena domaćih životinja Republike Hrvatske (NmBAG) je Zakon o uzgoju. Osnivanje NmBAG je u Nacionalnom programu istaknuto kao jedan od glavnih ciljeva, a čine ju:

*Banka gena domaćih životinja Republike Hrvatske (BAG) kao središnja banka gena priznate banke gena (pBAG)*

Prikupljanje bioloških uzoraka za deponiranje u NmBAG provode: 1) BAG kao središnja banka gena, 2) stručne institucije Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske, 3) priznata uzgojna udruženja nositelji odobrenih uzgojnih programa koja imaju status priznate banke gena, 4) priznata uzgojna udruženja nositelji odobrenih uzgojnih programa koja nemaju status priznate banke gena uz obvezu dostave uzoraka na pohranu u BAG i 5) pravne osobe u svojstvu trećih strana za provedbu specifičnih tehničkih aktivnosti u provedbi uzgojnih programa za koju ih je odabralo priznato uzgojno udruženje.

Priznate banke gena u sustavu NmBAG su u obvezi dostaviti duplikat svakog pohranjenog biološkog uzorka prema BAG, stoga na nacionalnoj razini vjerodostojan podatak o broju pohranjenih bioloških uzoraka u NmBAG, predstavlja broj uzoraka pohranjenih u depou BAG. Biološki uzorci pohranjeni samo u depou priznate banke gena, odnosno čiji duplikat nije dostavljen na pohranu u BAG, ne smatraju se dijelom nacionalne zbirke animalnih bioloških uzoraka u Republici Hrvatskoj. Prikupljanje, dokumentiranje, razmjena, ustupanje i korištenje biološkog materijala prema Zakonu o uzgoju propisuje se zasebnim pravilnikom.

## Zaključak

Razina zaštite genetskih resursa u Republici Hrvatskoj znatno je povećana zahvaljujući svim dosadašnjim aktivnostima. Međutim, predstoji niz aktivnosti kroz izradu pravilnika koji treba obuhvatiti prikupljanje, dokumentiranje, razmjenu, ustupanje i korištenje biološkog materijala te povezivanje pBAG u NmBAG. Istim se osigurava podloga za daljnji sustavni razvoj izgradnje konzervacijskih, a u nekim slučajevima i ekonomskih programa očuvanja s ciljem aktivnog upravljanja životinjskim genetskim resursima. Utemeljenje nacionalne mreže banke animalnih gena predstavljat će veliki napredak u aktivnostima očuvanja izvornih pasmina domaćih životinja kao hrvatske genetske baštine.

## Literatura

- Barker J. S. F. (2001). Conservation and management of genetic diversity: a domestic animal perspective. *Canadian Journal of Forest Research*. 31 (4): 588-595.
- Bruford M. W., Ginja C., Hoffmann I., Joost S., Orozco-terWengel P., Alberto F. J., Costa M. (2015). Prospects and challenges for the conservation of farm animal genomic resources, 2015–2025. *Frontiers in Genetics*. 6: 314.
- Caput P. (2007). Osvrt na sustav očuvanja izvornih pasmina stoke u Republici Hrvatskoj. *Konferencija o izvornim pasminama i sortama kao dijelu prirodne i kulturne baštine*. Šibenik, 13.-16.11.2007.; 43-45.
- Čačić M., Orehovalčki V., Špehar M., Dadić M., Čubrčić Čurik V., Čurik I. (2017). Prepreke očuvanju izvornih pasmina i razvoju banke gena. *Zbornik radova 52. hrvatskog i 12. međunarodnog simpozija agronoma*. Vila S., Antunović Z. (eds.), Dubrovnik, Hrvatska, 12. - 17. veljače 2017., str. 479-483.
- Čačić M., Orehovalčki V., Vukobratović M., Dražić M., Smetko A., Pavlešić T., Čubrčić Čurik V., Čurik I. (2015). Uloga banke gena u očuvanju izvornih pasmina domaćih životinja. *Zbornik radova 50. Hrvatskog i 10. Međunarodnog simpozija agronoma*. Pospišil M. (ur.) Opatija, Hrvatska, 16. - 20. veljače 2015., str. 424-428.

- ERFP - European Regional Focal Point (2003). Guidelines for the constitution of national cryopreservation programmes for farm animals. Publication NO. 1 of the European Regional Focal Point on Animal Genetic Resources. Paris.
- FAO (2015). The second report on the state of the world's animal genetic resources for food and agriculture. In FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments (ur. Scherf, B. D. i Pilling, D), Food and Agriculture Organization, Rome
- Groeneveld E. (2007): A world wide emergency programme for the creation of national gene banks of endangered breed in animal agriculture. *Stočarstvo*. 61 (6): 39-42.
- Hiemstra S. J., Martyniuk E., Ducheve Z., Begemann (2014). European Gene Bank Network for Animal Genetic Resources (EUGENA). *10<sup>th</sup> World Congress of Genetics Applied to Livestock Production*. Vancouver, BC, Canada, August 17-22, 2014.
- Hiemstra S. J., Boettcher P., Crooijmans R. P. M. A., Danchin-Burge C., Leroy G., Moran D., Kugle W., Woelders H. and Tixier-Boichard M., (2019). Enhancing the functioning of farm animal gene banks in Europe: results of the IMAGE project. *In Proceedings of ESPG conference 23-25 October Prague Czech Republic* (pp. 25-28).
- Leroy G., Carroll E.L., Bruford M.W., DeWoody J.A., Strand A., Waits L., Wang J. (2018). Next-generation metrics for monitoring genetic erosion within populations of conservation concern. *Evolutionary Applications*. 11 (7): 1066-1083.
- Leroy G., Mary-Huard T., Verrier E., Danvy S., Charvolin E., Danchin-Burge C. (2013). Methods to estimate effective population size using pedigree data: Examples in dog, sheep, cattle and horse. *Genetics Selection Evolution*, 45: 1. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-45-1>
- MP RH - Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske (2010). Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja. Zagreb
- MP RH - Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske (2020). Nacionalni program očuvanja izvornih i ugroženih pasmina domaćih životinja 2021-2025. Zagreb – u pripremi
- Oldenbroek J. K. (1999). Genebanks and the management of farm animal genetic resources. DLD Institute for Animal Science and Health. The Netherlands.
- Pizzi F., Turri F., Gliozzi T.M., Gandini G. (2016). Implementation and cost analysis of a regional farm animal cryobank: an Italian case study. *Italian Journal of Animal Science*, 15 (2): 207-210.
- \* Zakon o uzgoju domaćih životinja (Narodne novine, 115/2018)

## The importance of establishing a national network of animal gene banks

### Abstract

Throughout history, a large number of indigenous (local) breeds adapted to environmental factors have been created, which have been continuously suppressed by high-yielding breeds. With the global recognition of the necessity of preserving biological (genetic) diversity, intensive efforts to preserve native breeds begin. In the year 2010 the Republic of Croatia has developed a national conservation program which has created the preconditions for the establishment of an animal gene bank. By taking over the *acquis communautaire* of the European Union, the Ministry of Agriculture is developing a new national conservation program which creates preconditions for the establishment of a national network of animal gene banks with the aim of intensifying cryopreservation programs of native breeds of domestic animals.

**Key words:** animal gene bank, national network, national program, Croatia

## Djeca kao potencijal razvoja hrvatske konjičke industrije

Mato Čačić<sup>1</sup>, Marica Maja Dražić<sup>1</sup>, Ana Čačić<sup>2</sup>, Nina Karapandža<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, Ulica grada Vukovara 78, 10000 Zagreb, Hrvatska (mato.cacic@mps.hr)

<sup>2</sup>Učiteljski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Savska cesta 77, 10000 Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Cilj istraživanja je bio dobiti spoznaju o interesu djece osnovnoškolske dobi prema konjima kao potencijalu u razvoju hrvatske konjičke industrije i općenitom poznavanju konja kao domaćih životinja i tradiciji u pojedinim hrvatskim županijama. Od ukupno 3568 osnovnoškolaca njih čak 71,4 % je boravilo izravno s konjima, a od 941 djeteta koje nije imalo priliku boraviti s konjima njih 54 % je izjavilo da za time ima želju. Djeca nižih razreda imaju nešto veći interes za boravljenje s konjima (50,6 %) od djece viših razreda (49,4 %), a interes osnovnoškolaca za konjima opada s dobi. Djevojčice imaju za 13,7 % veći interes za bavljenje konjima. Obiteljsko bavljenje konjima u trenutku anketiranja zabilježeno je kod 17 % osnovnoškolaca. Obzirom na boju, osnovnoškolci imaju najveću sklonost prema sivoj boji konja (24,6 %). Utvrđena je velika uloga osnovnih škola u povećanju interesa kod djece za bavljenje konjima, posebice u nižim razredima, kao velikim potencijalom u razvoju hrvatske konjičke industrije, ali očuvanju hrvatskih izvornih pasmina konja.

**Ključne riječi:** djeca, interes prema konjima, konjička industrija, Republika Hrvatska

### Uvod

Aktivnosti vezane uz konje u ekonomski razvijenijim zemljama zbog profitabilnosti objedinjuju se nazivom "konjička industrija" (Čačić, 2010.). Razvijene konjičke industrije imaju veliku ulogu u nacionalnim ekonomijama i doprinose socijalnoj stabilnosti zajednice, očuvanju okoliša, zdravlju ljudi i poboljšanju kvalitete življenja (Matheson i Akoorie, 2012.; Jez i sur., 2013.; DelCurto i sur., 2017.).

Konjogojstvo Republike Hrvatske je relativno malo, ali statistički pokazatelji ukazuju na kontinuirani porast interesa za uzgoj i bavljenje konjima (Čačić, 2010.). Sklonost prema životinjama oblikuje se u ranom djetinjstvu (Borgi i Cirulli, 2015.; Martens i sur., 2019.) i može imati utjecaja na odabir životnog zanimanja (San Miguel i sur., 2013.). Ljubav prema konjima osigurava prednost u stvaranju karijere i u obavljanju poslova u konjičkoj industriji (Oklahoma CareerTech, 2020.). Obzirom na raznolikost aktivnosti unutar konjičke industrije, ona objedinjuje poslove različitih vrsta i razina obrazovanja, vještina i interesa, od kojih neki poslovi zahtijevaju i fakultetsko obrazovanje, a poneki veću sposobnost rada s ljudima nego s konjima.

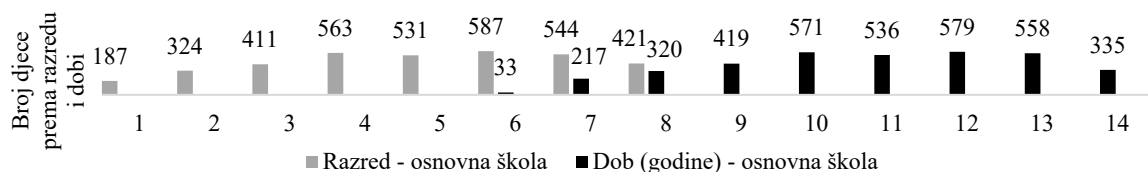
Zbog činjenice da konjička industrija treba različita zanimanja, ali da ista u svrhu uspješnosti trebaju proizaći iz sklonosti i ljubavi prema konjima, u razvijenim nacionalnim konjičkim industrijama animiranje mladih za bavljenje konjima započinje već kod djece u nižim razredima osnovne škole, pa čak i predškolske dobi (Jez i sur., 2013.). Upravo zbog toga u državama s razvijenom konjičkom industrijom djeluju udruženja (klubovi) za djecu temeljena na konjičkim sportovima s pasminama poni konja, ali koja usko surađuju s nacionalnim konjičkim sportskim udruženjima i profesionalnim hipodromima (Horsetalk.co.nz, 2017.). U istim državama njeguje se uzgoj poni pasmina konja koji

predstavlja hobi, rekreaciju i početak bavljenja konjičkim sportom i općenito konjima (Čačić i sur., 2005.). Pojedini profesionalni hipodromi imaju dugogodišnje programe posjeta mladih organizirano s osnovnim školama u kojima na godišnjoj razini hipodrom posjeti više od 20000 djece (Paulick Report, 2019.). Razlog svih tih aktivnosti i programa je animiranje mladih za bavljenje konjima i obrazovanjem za poslove konjičke industrije.

Cilj istraživanja je bio dobiti spoznaju o interesu osnovnoškolaca u Hrvatskoj prema konjima kao potencijalu u razvoju hrvatske konjičke industrije i općenitom poznavanju konja kao domaćih životinja.

## Materijal i metode

Podaci za analizu dobiveni su anketnim ispitivanjem 3568 djece u osnovnim školama 2010. godine u 27 osnovnih škola u 27 naselja na prostoru 13 hrvatskih županija (Zagrebačka 25,5 %, Virovitičko-podravska 19,1 %, Požeško-slavonska 13,4 %, Primorsko-goranska 8,2 %, Varaždinska 6,7 %, Međimurska 6,3 %, Bjelovarsko-bilogorska 5,4 %, Grad Zagreb 5,0 %, Dubrovačko-neretvanska 3,6 %, Sisačko-moslavačka 3,2 %, Karlovačka 2,2 %, Brodsko-posavska 1,3 % i Koprivničko-križevačka 0,1 %. Prema spolu, istraživanje je obuhvatilo 1809 dječaka (50,7 %) i 1759 djevojčica (49,3 %). Na anketu je odgovorilo 1485 (41,6 %) djece u nižim razredima osnovnih škola (I.-IV.) i 2083 (58,4 %) u višim razredima (V.-VIII.) (Grafikon 1).



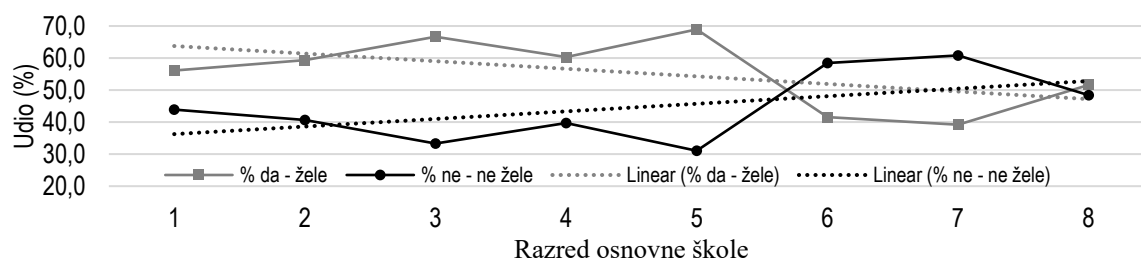
Grafikon 1. Distribucija anketiranih osnovnoškolaca prema dobi i razredu osnovne škole

## Rezultati i rasprava

Na početku istraživanja bilo je važno dobiti spoznaju u kojem udjelu su djeca osnovnoškolskog obrazovanja imala prilike biti u izravnoj blizini tj. kontaktu s konjima. Analiza ukazuje da je čak 71,4 % (2464) osnovnoškolaca imalo izravan kontakt s konjima, djevojčice (75,6 %) nešto više u odnosu na dječake (67,2 %). Uočeno je da osnovnoškolci istih škola i razreda često imaju iste odgovore obzirom na navođenja mjesta na kojima su boravila s konjima, te je zapaženo da su često djeca imala prilike boravati s konjima tijekom školskih izleta.

Od 941 osnovnoškolaca koji nisu nikada imali prilike boraviti uz konje, više od polovice (54 %) izjavilo je da su pomišljali i da imaju želju boraviti uz konje. Djeca viših razreda su izjavila da su zainteresirana za konje u većem udjelu (61,4 %) u odnosu na djecu nižih razreda (49,4 %). Interes osnovnoškolaca koji do sada nisu imali prilike za boravljenje uz konje postupno opada kroz razrede, odnosno s porastom dobi (Grafikon 2). Istraživanja Kellert (1984.) o stavovima američke djece prema životinjama ovisno o njihovoj dobi te Binngießer i sur (2013.) o stavovima njemačke djece i adolescenata, potvrđuju da se odrastanjem smanjuje interes za životinje.





Grafikon 2. Udjeli osnovnoškolaca prema razredima osnovne škole koja nisu imali priliku boraviti s konjima, a za time imaju, odnosno nemaju želju (n = 941)

Dječaci i djevojčice su podjednako boravili s konjima (Tablica 1).

Tablica 1. Frekvencija boravljenja osnovnoškolaca s konjima prema spolu i skupini razreda (n = 2464)

Kategorija	Boravljenje djece s konjima (n / %)						Ukupno (n/%)
	samo jednom	do 10	od 11 do 20	više od 20	redovno		
Spol	Dječak	230 / 19,7	657 / 56,2	35 / 3,0	210 / 17,9	38 / 3,2	1.170/47,5
	Djevojčica	212 / 16,4	765 / 59,1	33 / 2,6	240 / 18,5	44 / 3,4	1.294/52,5
	Niži: I-IV	231 / 29,7	557 / 57,2	30 / 3,1	137 / 14,1	19 / 2,0	974/39,5
Razredi	Viši: V-VIII	211 / 14,2	865 / 58,1	38 / 2,6	313 / 21,0	63 / 4,2	1.490/60,5
Ukupno:		442 / 17,9	1.422/57,7	68 / 2,8	450 / 18,3	82 / 3,3	2.464 / 100

Osnovnoškolici viših razreda boravili su više uz konje za 20,9 % u odnosu na osnovnoškolce nižih razreda, što se može objasniti da su zbog dobi za to starija djeca imala više prilika, a ne zbog interesa starije djece za konje. Od ukupno 2464 osnovnoškolaca koji su imali izravan kontakt s konjima, najveći udio boravilo je uz konje do 10 puta (57,7 %).

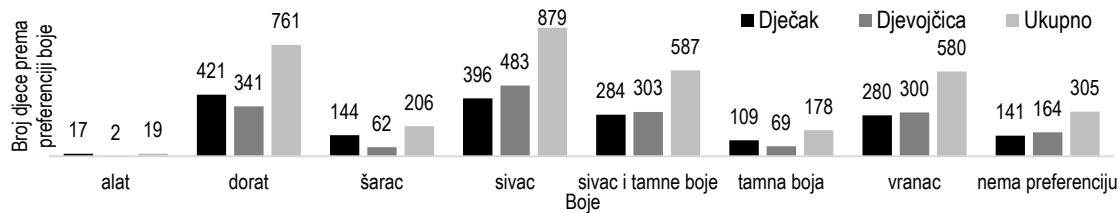
Od ukupnog broja osnovnoškolaca koji su barem jednom boravili uz konje, njih 84 % (2144) je izjavilo da je barem jednom jahalo na konju. Očekivano, više prilike jahati konja zbog starije dobi imali su osnovnoškolci viših (59,1 %) u odnosu na djecu nižih (40,1 %) razreda. Za istaknuti je da je veći interes za jahanjem bio od strane djevojčica (67,1 %) u odnosu na dječake (56,4 %). Manji udio osnovnoškolaca izjavio je da se barem jednom vozilo u fижakeru (27,0 %), a još manji da je barem jednom nazočilo nekom od konjičkih najecanja (22,1 %), a za oboje su podjednako imali prilike i dječaci i djevojčice.

Čak 86,3 % anketiranih osnovnoškolaca je izjavilo da ima želju naučiti jahati, s tim da su veći interes iskazale djevojčice (93,2 %) u odnosu na dječake (79,6 %), što je slično istraživanjima Binngießer i sur. (2013.) koji su utvrdili općenito veći interes djevojčica za životinje.

Istraživanjem se također željela dobiti spoznaja da li je aktivnost bavljenja konjima postojala ili postoji obitelji, bez obzira da li se radi o uzgoju, konjičkom sportu ili rekreaciji. Utvrđeno je da je kod 13,4 % unutar uže i 3,6 % unutar šire obitelji anketirane djece aktivnost bavljenja konjima bila ili je još uvijek prisutna. Udio od 17 % osnovnoškolaca koji su izjavili da je aktivnost bavljenja konjima bila ili još uvijek postoji u obiteljskom krugu. Rezultat je relativno velik, kada se promatra sa stajališta modernog načina življenja, i kada konji odavno

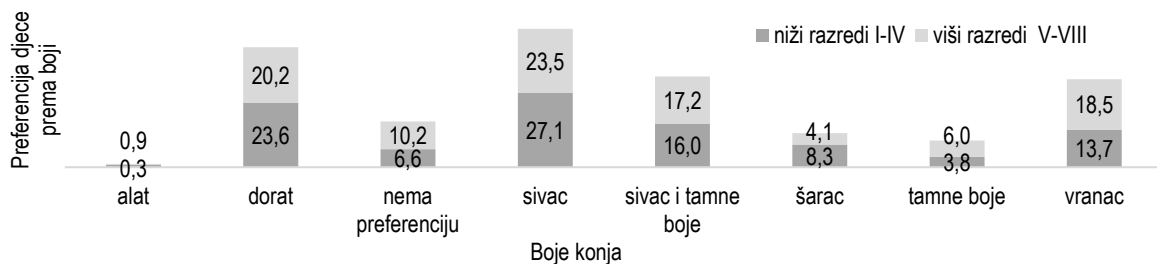
više nisu izvor radne snage u poljoprivredi i transportu, odnosno u vremenu kada konji više nemaju ulogu u svakodnevnom životu kao u prošlosti.

Boja konja ima veliku utjecaj na vizualni dojam u kontaktu s konjem, radi čega je istražena sklonost osnovnoškolaca prema bojama konja (Grafikon 3). Najveća je preferencija prema sivoj (24,6 %) boji, slijedi dorata (21,3 %) i vrana (16,26 %) boja. Osnovnoškolci koji su naveli dvije boje, istaknuli su sivu uz doratu ili vranu kao tamne boje (16,5 %). Djevojčice imaju veću preferenciju prema sivoj boji (55 %) u odnosu na dječake (45 %), dok djecači imaju veću sklonost prema konjima šarene (69,9 %) i tamnih (61,2 %) boja.



Grafikon 3. Preferencija osnovnoškolaca prema boji konja (n = 3515)

Osnovnoškolci nižih razreda osnovne škole imaju veću preferenciju prema sivoj, doratoj i šarenoj boji, u odnosu na djecu viših razreda (Grafikon 4). Obzirom na preferenciju prema boji, djeca najmanje preferiraju alatu boju, što se može pojasniti time da ju percipiraju kao nijansu dorate boje obzirom na nepoznavanje boja konja.



Grafikon 4. Preferencija osnovnoškolaca prema boji konja u odnosu na razrednu skupinu (u %) (n = 3515)

Promatrano sa stajališta uzgojnih područja naših izvornih pasmina konja, za očekivati je da će osnovoškolci u slavonskim županijama (Brodsko-posavska, Požeško-slavonska i Virovitičko-podravska županija) imati veću sklonost prema sivoj boji obzirom da je to uzgojno područje lipicanske pasmine. Također se pretpostavilo da će osnovnoškolci na prostoru Sisačko-moslavačke županije koja je uzgojno područje hrvatskog hladnokrvnjaka i hrvatskog posavca koje karakteriziraju tamne boje te na prostoru Međimurske županije koja je uzgojno područje međimurskog konja kojem su također tamne boje pasminska obilježja, pokazati veću naklonjenost prema tamnim bojama. Rezultat ankete pokazao je upravo suprotno. U istraženim slavonskim županijama osnovnoškolci su imali veću sklonost prema tamnim bojama (dorata i vrana), a prema sivoj u Sisačko-moslavačkoj (30,6 %) i Međimurskoj (čak 41,2 %) županiji. Zapažanje autora je da osnovnoškolci u županijama u kojima se ne nalazi veliki broj konja, imaju veću sklonost prema sivoj boji, što je zasigurno utjecaj medija u kojima se često pojavljuju konji sive boje, a ne utjecaj susretanja sa sivim konjima.

## Zaključak

Jedan od preduvjeta razvoja hrvatske konjičke industrije je povećanje broja sudionika u raznim aktivnostima koje konjička industrija obuhvaća. Istraživanjem je utvrđen interes osnovnoškolaca za konjima kao potencijalnih profesionalnih i rekreativnih sudionika buduće konjičke industrije, posebice nižih razreda. Tijekom istraživanja zapaženo je da osnovne škole kao institucije imaju veliki utjecaj u animiranju djece za bavljenje konjima kao potencijalnih sudionika konjičke industrije, kroz svoje teorijske i praktične programe kojima su tema konji i posjeti mjestima uzgoja konja. Veliki nedostatak za daljnji razvoj hrvatske konjičke industrije je manjak programa obrazovanja za brojna zanimanja koja su neizostavan dio konjičke industrije. Za istaknuti je da i očuvanje hrvatskih izvornih i ugroženih pasmina konja, koje čine čak 61 % nacionalne populacije konja u 2019. godini, ovisi upravo o mladim generacijama uzgajivača koje će ih nastaviti uzgajati kao nasljeđe za budućnost.

## Literatura

- Binngießer J., Wilhelm C., Randler C. (2013). Attitudes toward animals among German children and adolescents. *Anthrozoös*. 26 (3): 325-339.
- Borgi M., Cirulli F. (2015). Attitudes toward Animals among Kindergarten Children: Species Preferences, *Anthrozoös*. 28 (1): 45-59.
- Čačić M. (2010.). Što je konjička industrija? *Stočarstvo*. 63 (1): 49-64
- Čačić M., Korabi N., Tadić D., Kolarić S., Mladenović M., Pavan J. (2005). Uzgoj ponija u Hrvatskoj. *Stočarstvo*. 59 (6): 403-416
- DelCurto T., Murphy T., Moreaux S. (2017). Demographics and long-term outlook for western us beef, sheep, and horse industries and their importance for the forage industry. In *Proceedings of the Western Alfalfa and Forage Symposium, Reno, NV, USA (28–30 November 2017)*
- Horsetalk.co.nz (2017). They're racing! Pony club kids get taste of thoroughbred industry. *Raspoločivo*: <https://www.horsetalk.co.nz/2017/08/18/racing-pony-club-thoroughbred-industry/>
- Jez C., Coudurier B., Cressent M., Méa F. (2013). Factors driving change in the French horse industry to 2030. *Advances in Animal Biosciences*. 4 (s2): 66.
- Kellert S. R. (1984.). Attitudes toward animals: Age-related development among children. In M.W. Fox & L.D. Mickley (Eds.), *Advances in animal welfare science 1984/85* (pp. 43-60). Washington, DC: The Humane Society of the United States.
- Martens P., Hansart C., Su B. (2019). Attitudes of Young Adults toward Animals—The Case of High School Students in Belgium and The Netherlands. *Animals*. 9 (3): 88.
- Matheson A., Akoorie M. E. (2012). Economic impact report on the New Zealand sport horse industry. The University of Waikato.
- Oklahoma CareerTech (2020). The Horse Industry. Unit 9. Powering Oklahoma's Economy. *Raspoločivo*: <https://www.okcareertech.org/educators/cimc/free-samples/ag-cluster/pdf-files/ag1student.pdf/view>
- Paulick Report (2017). Keeneland returns program to educate kids about thoroughbred industry. *Raspoločivo*: <https://www.paulickreport.com/news/people/keeneland-returns-program-to-educate-kids-about-thoroughbred-industry/>
- San Miguel S. F., Carleton Parker L., Adedokun O. A., Burgess W. D., Cipriani Davis K. S., Blossom T. D., Wackerly A. J. (2013). Fat dogs and coughing horses: K–12 programming for veterinary workforce development. *Journal of veterinary medical education*. 40 (4): 419-425.

## **Children - The foundation of the development of the Croatian horse industry**

### **Abstract**

The research aimed to gain knowledge about children's interest in horses as a potential in the development of the Croatian equestrian industry and general knowledge of horses as domestic animals. Out of a total of 3568 primary school children, 71.4% had contact with horses, while of children who did not, 54% expressed a desire. Children of lower elementary grades have a higher interest in staying with horses (50.6%) in comparison to children from 5<sup>th</sup> to 8<sup>th</sup> grade (49.4%), indicating that children's interest in horses decreases with age. Girls are more interested in horses for 13.7% in comparison with boys. Family involvement with horses at the time of the survey was recorded in 17% of children. Elementary school children have a preference for the grey colour of horses (24.6%). The role of primary schools in increasing the interest of children in horses, especially in the first four grades, has been established, as valuable potential in the development of the Croatian equestrian industry, as well as the preservation of Croatian original horse breeds.

**Key words:** children, attitudes toward horses, horse industry, Republic of Croatia

## Utjecaj redoslijeda janjenja na porodnu masu i prirast ja njadi travničke pramenke

Valentino Držaić<sup>1</sup>, Ivan Širić<sup>1</sup>, Ante Kasap<sup>1</sup>, Josip Novoselec<sup>2</sup>, Željka Klir Šalavardić<sup>2</sup>, Zvonko Antunović<sup>2</sup>, Boro Mioč<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (vdrzaic@agr.hr)

<sup>2</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska

### Sažetak

Cilj predmetnog istraživanja bio je utvrditi utjecaj redoslijeda janjenja (1.-5.) na porodnu masu i prirast janjadi travničke pramenke. Istraživanje je provedeno na 94 janjeta oba spola odbitih u prosječnoj dobi od oko 70 dana. Prosječna porodna masa, masa pri odbiću, ukupni prirast i prosječni dnevni prirast bili su redom 4,49 kg, 20,64 kg, 16,07 kg i 225,76 g. Svi istraživani pokazatelji rasta janjadi povećavali su se s rednim brojem janjenja njihovih majki (od prvog do četvrtog) iako razlike u utvrđenim prosjecima nisu bile statistički značajne ( $P > 0.05$ ).

**Ključne riječi:** travnička pramenka, redoslijed janjenja, porodna masa, prirast

### Uvod

Porodna masa janjadi je pod utjecajem brojnih čimbenika od kojih su najvažniji: genotip (pasmina), dob i razvijenost majke, redoslijed janjenja, veličina legla, spol, trajanje gravidnosti, hranidba ovaca tijekom gravidnosti, sezona janjenja i zdravlje ovaca (Mioč i sur., 2007.). Dob ovaca i redoslijed janjenja su dva usko povezana čimbenika koji u pravilu vjerno prate jedan drugoga i vrlo je teško donositi zaključke o njihovim parcijalnim utjecajima. Drugim riječima, mlađe ovce u pravilu imaju i manji redni broj janjenja od starijih pa većina zaključaka koji su vezani uz dob prate one vezane uz redoslijed janjenja/laktacije. Tako primjerice, Boujenane (2002.) ističe važnost dobi ovce pri janjenju na porodnu masu janjadi navodeći da ovce mlađe od 30 mjeseci janje lakšu janjad (2,4 kg) u odnosu na ovce starije od 55 mjeseci koje janje težu janjad (2,92 kg). Slično zaključuju Dwyer i sur. (2005.) navodeći da ovce koje se prvi puta janje daju lakšu janjad u odnosu na starije ovce. Povećanje tjelesne mase janjadi s povećanjem dobi ovaca posljedica je povećanja maternice u kojoj se fetus razvijaju. Također, mlađe ovce se još uvijek razvijaju te koriste energiju za svoj vlastiti rast i razvoj što u konačnici utječe na porodnu masu njihove janjadi. Suprotno navedenom, starije ovce su dostigle svoj puni rast i razvoj te mogu preusmjeriti svu energiju na intrauterini rast janjadi. Stoga starije ovce janje težu janjad od mlađih ovaca (Ali i sur., 2006.).

Pored utjecaja na prenatalni rast janjadi koji se manifestira u ostvarenoj porodnoj masi, redni broj janjenja utječe i na postnatalni rast janjadi (Gbangboche i sur., 2006.). Utjecaj redoslijeda janjenja na prirast janjadi može se povezati s utjecajem redoslijeda laktacije na količinu i kemijski sastav mlijeka. Obično mlađe ovce, u prvoj laktaciji, proizvode manje mlijeka od starijih. Maksimalna proizvodnja mlijeka je u trećoj ili u četvrtoj laktaciji, a nakon toga proizvodnja mlijeka stagnira i polako opada (Mavrogenis, 1996.). Redoslijed laktacije značajno utječe na količinu proizvedenoga mlijeka koja se progresivno povećava od prve do četvrte laktacije (Gabiña i sur., 1993.). Sukladno navedenom, Peeters i sur. (1996.) navode značajno manju porodnu masu i postnatalni prirast janjadi jednogodišnjih

ovaca u odnosu na janjad starijih ovaca, dok su Said i sur. (2000.) utvrdili da najveći prirast postiže janjad dobivena od četverogodišnjih ovaca. Navedeno potvrđuju Ūnal i sur. (2008.) ističući pozitivnu korelaciju između dnevne proizvodnje mlijeka ovaca tijekom cijele laktacije i dnevnih prirasta janjadi u razdoblju prije odbića.

Cilj predmetnog istraživanja bio je utvrditi utjecaj redoslijeda janjenja na porodnu masu i prirast janjadi travničke pramenke do odbića.

### Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na janjadi travničke pramenke na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu Aščić smještenom u okolici Grubišnog Polja. Proizvodni cilj navedenog gospodarstva je proizvodnja mlijeka te uzgoj janjadi za meso (janjetine). Janjad nakon janjenja boravi zajedno s ovcama i siše prvo kolostrum, a zatim mlijeko sve do odbića ili klanja, odnosno do navršene prosječne dobi oko 70 dana. Predmetnim istraživanjem ukupno je bilo obuhvaćeno 94 janjadi travničke pramenke oba spola (49 muške i 45 ženske) ojanjene u 84 janjenja (Tablica 1). Da bi se izbjegao utjecaj sezone na istraživane pokazatelja sva odabrana janjad obuhvaćena predmetnim istraživanjem ojanjena je u razdoblju od 14.01. do 28.01. 2018. godine.

Tablica 1. Klasifikacija istraživane janjadi po spolu, tipu rođenja i rednom broju janjenja njihovih majki

Redoslijed janjenja	Broj janjenja	Veličina legla	Broj janjadi po spolu		Broj janjadi
			Muško	Žensko	
1.	6	samci	3	3	6
		blizanci	0	0	0
2.	15	samci	4	9	13
		blizanci	3	1	4
3.	26	samci	14	9	23
		blizanci	4	2	6
4.	33	samci	15	13	28
		blizanci	3	7	10
5.	4	samci	3	1	4
		blizanci	0	0	0
Ukupno	84	-	49	45	94

Neposredno nakon janjenja i utvrđivanja spola janjad je pojedinačno izvagana i označena internom ušnom markicom. Sva janjad cijelo vrijeme trajanja istraživanja boravila je zajedno s ovcama (majkama) te bila u istim uvjetima smještaja i hranidbe. Janjad je uz majčino (ovčje) mlijeko po volji konzumirala livadno sijeno i krepku krmu sačinjenu od prekrupe kukuruznog zrna, ječma, zobi i sojine sačme uz mineralno vitaminski dodatak u količini od oko 250 grama/grlu/dnevno. Na kraju sisajućeg razdoblja, neposredno prije odbića sva istraživana janjad je pojedinačno izvagana sa svrhom utvrđivanja tjelesne mase pri odbiću. Na osnovu utvrđene porodne mase, dobi i mase pri odbiću izračunat je prosječni ukupni i prosječni dnevni prirast janjadi.

Statistička analiza provedena je programom SAS/STAT® 9.4 (SAS 2019.). Pokazatelji deskriptivne statistike utvrđeni su procedurom MEANS. Utjecaj redoslijeda janjenja na porodnu masu, prirast do odbića, prosječni dnevni prirast i masu kod odbića analiziran je GLM procedurom pri čemu su spol i veličina legla korišteni kao diskretne, a dob kod odbića (osim za porodnu masu) kao kontinuirana kovarijabla.

## Rezultati i rasprava

Opisna statistika istraživanih pokazatelja janjadi travničke pramenke prikazana je u tablici 2. Prosječna porodna masa janjadi bila je 4,49 kg s rasponom od 3,18 kg do 7,40 kg. Usporedbe radi, Obućina i sur. (2014.) navode prosječnu porodnu masu janjadi ličke pramenke od 3,19 kg, s rasponom od 2,20 kg do 4,20 kg. Pri odbiću u dobi od oko 70 dana janjad je postigla prosječnu tjelesnu masu od 20,64 kg. U navedenom razdoblju prosječni dnevni prirast janjadi travničke pramenke bio je 225,76 grama, dok je maksimalni prirast u pojedine janjadi iznosio i više od 350 grama (Tablica 2). Utvrđene prosječne vrijednosti dnevnog prirasta u skladu su s onima koje za travničku pramenku navode Mioč i sur. (2007.).

Tablica 2. Opisna statistika istraživanih pokazatelja janjadi travničke pramenke

Pokazatelj	N	$\bar{x}$	Min.	Max.	Std. Dev.	CV (%)
Porodna masa (kg)	94	4,49	3,18	7,40	0,77	17,16
TM pri odbiću (kg)	86	20,64	11,66	32,60	4,42	21,44
Dob (dana)	86	70,97	61,00	77,00	4,43	6,24
Dnevni prirast (g)	86	225,76	95,47	358,11	52,53	23,27
Ukupni prirast (kg)	86	16,07	7,16	26,50	4,10	25,53

N – broj ovaca;  $\bar{x}$  – aritmetička srednja vrijednost; Min. – najmanja vrijednost; Max. – najveća vrijednost; Std. Dev. – standardna devijacija; CV – koeficijent varijabilnosti; TM – tjelesna masa

Utjecaj redoslijeda janjenja na porodnu masu janjadi, tjelesnu masu pri odbiću, te dnevni i ukupni prirast prikazan je u tablici 3. Utvrđena porodna masa janjadi se povećavala s redoslijedom janjenja, a u četvrtom janjenju je bila najveća i iznosila je 4,41 kg. Utvrđene razlike u porodnim masama janjadi s obzirom na redoslijed janjenja nisu bile statistički značajne. Povećanje tjelesne mase janjadi od prvog do četvrtog janjenja te statistički značajno manju porodnu masu u prvom janjenju navode Ebangi i sur. (1996.). Nadalje, značajno povećanje porodne mase janjadi od prvog do četvrtog janjenja, a zatim smanjenje porodne mase od petog janjenja navode Gardner i sur. (2007.) te Bermejo i sur. (2010.). Gardner i sur. (2007.) tvrde da je najveće povećanje porodne mase janjadi utvrđeno između prvog i drugog janjenja, čak za 350 grama. U predmetnom istraživanju povećanje porodne mase između prvog i drugog janjenja bilo je manje od deset grama, dok je najveći porast porodne mase utvrđen između drugog i trećeg janjenja i to za oko 30 grama. Slične rezultate navode i Bermejo i sur. (2010.) koji su utvrdili statistički značajne razlike u porodnoj masi janjadi između janjadi ovaca koje su se janjile prvi i drugi put od onih koje su se janjile treći i četvrti put. Razlog navedenom autori pripisuju činjenici da mlađe ovce još nisu dostigle odraslu veličinu te nastavljaju svoj rast i za vrijeme gravidnosti te se na taj način „natječu“ s fetusom (fetusima) za dostupna hranjiva.

Tablica 3. Utjecaj redoslijeda janjenja na istraživane pokazatelje janjadi travničke pramenke (LSM $\pm$ s.e.)

Redoslijed janjenja	Porodna masa (kg)	Tjelesna masa (kg)	Dnevni prirast (grama)	Ukupni prirast (kg)
1.	3,95 $\pm$ 0,29	19,31 $\pm$ 1,72	216,07 $\pm$ 22,16	15,32 $\pm$ 1,60
2.	4,03 $\pm$ 0,17	19,71 $\pm$ 1,15	220,66 $\pm$ 14,79	15,62 $\pm$ 1,07
3.	4,31 $\pm$ 0,14	19,79 $\pm$ 0,88	216,89 $\pm$ 11,39	15,43 $\pm$ 0,82
4.	4,41 $\pm$ 0,12	20,28 $\pm$ 0,78	222,33 $\pm$ 10,10	15,84 $\pm$ 0,73
5.	3,79 $\pm$ 0,36	17,95 $\pm$ 2,09	198,20 $\pm$ 26,91	14,11 $\pm$ 1,95
Razina značajnosti	NZ	NZ	NZ	NZ

Sličan obrazac promjena, odnosno povećanje od prvog do četvrtog janjenja, utvrđen je i za ostala istraživana svojstva (tjelesnu masu pri odbiću, prosječni dnevni prirast i ukupni prirast (Tablica 3). Tjelesna masa janjadi se povećala s 19,31 kg na 20,28 kg, ukupni prirast s 15,32 kg na 15,84 kg, a prosječni dnevni prirast s 216,07 g na 222,33 g. Utvrđeni obrazac promjena istraživanih pokazatelja podudara se s rezultatima Bermejo i sur. (2010.) i Kumar i sur. (2017.) koji su također utvrdili porast prirasta od prvog do četvrtog janjenja, koji kao i u našem slučaju nisu bili statistički značajni. Izostanak statistički značajnog učinka na postnatalni rast janjadi u ovom istraživanju može se djelomično pripisati veličini uzorka, ali i činjenici da je istraživana janjad na dispoziciji stalno imala koncentrat čime je umanjen doprinos laktacijskih svojstava njihovih majki na njihov prirast u razdoblju do odbića. Iako istraživani utjecaj u ovom i gore navedenim istraživanjima nije okarakteriziran kao statistički značajan, konzistentnost u dobivenim rezultatima daje za pravo njegovo generaliziranje u sustavima uzgoja janjadi koja do odbića boravi uz majke i ima mogućnost sisanja.

### Zaključak

Uzimajući u obzir rezultate ovog, kao i one dosad objavljenih istraživanja u kontekstu ove problematike, možemo zaključiti da redni broj janjenja ovaca ima konzistentan učinak na rodnu masu i dinamiku rasta janjadi u različitim sustavima uzgoja. Međutim, izostanak statističke značajnosti može biti posljedica tehnologije uzgoja gdje je janjad prije odbića imala na raspolaganju koncentrat po volji. Nadalje, u ekstenzivnim sustavima uzgoja janjad bi bila pod većim utjecajem laktacijske proizvodnje mlijeka ovce (majke) pa se pretpostavlja da bi i učinak redosljeda janjenja zasigurno bio veći.

### Literatura

- Ali S., Hussain P., Akhtar P., Younas M., Khan A. (2006). Relationship of birth weight of lambs with age of ewes at service in rambouillet sheep. *Pakistan Veterinary Journal*. 26 (4): 187-789.
- Bermejo L. A., Mellado M., Camacho A., Mata J., Arévalo J. R., de Nascimento L. (2010). Factors Influencing Birth and Weaning Weight in Canarian Hair Lambs. *Journal of Applied Animal Research*. 37 (2): 273-275.
- Boujenane I. (2002). Development of the DS synthetic breed of sheep in Morocco: ewe reproduction and lamb preweaning growth and survival. *Small Ruminant Research*. 45: 61-66.
- Dwyer C. M., Lawrence A. B., Bishop S. C., Lewis M. (2003). Ewe-lamb bonding behaviours at birth are affected by maternal undernutrition in pregnancy. *British Journal of Nutrition*. 89:123-136.
- Ebangi A. L., Nwakalor L. N., Mbah D. D. A., Abba. (1996). Factors affecting the birth weight and neonatal mortality of Massa and Fulbe sheep breeds in a hot and dry environment, Cameroon. *Revue d'Elevage et de Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux*. 49 (4): 349-353.
- Gabiña D., Arrese F., Arranz J., de Heredia B. (1993). Average milk yields and environmental effects on Latxa sheep. *Journal of Dairy Science*. 76: 1191-1198.
- Gardner D. S., Buttery P. J., Daniel Z., Symondus M. E. (2007). Factors affecting birth weight in sheep: maternal environment. *Reproduction*. 133: 297-307.
- Gbangboche A. B., Youssao A. K. I., Senou M., Adamou-Ndiaye M., Ahissou A., Farnir F., Michaux C., Abiola F. A., Leroy P. L. (2006). Examination of non-genetic factors affecting the growth performance of djallonke sheep in soudanian zone at the Okpara breeding farm of Benin. *Tropical Animal Health and Production*. 38: 55-64.
- Kumar D. A. P., Prakash M. G., Gupa B. R., Raghunandan T., Chandra A. S. (2017). Average daily gain and Kleiber Ratio in Deccani Sheep. *The Pharma Innovation Journal*. 6 (6): 194-197.
- Mavrogenis A. P. (1996). Estimates of environmental and genetic parameters influencing milk and growth traits of Awassi sheep in Cyprus. *Small Ruminant Research*. 20: 141-146.
- Mioč B., Pavić V., Sušić V. (2007). *Ovčarstvo*. Hrvatska mljekarska udruga. Zagreb.
- Obućina P., Držaić V., Mioč B. (2014). Neke mesne odlike janjadi ličke pramenke. *Stočarstvo*. 68 (3): 65-70.



- Peeters R., Kox G., van Isterdael J. (1996). Environmental and maternal effects on early postnatal growth of lambs of different genotypes. *Small Ruminant Research*. 19: 45-53.
- Said S. I., Muwalla M. M., Hanrahan J. P., Orhan A. (2000). Environmental aspects of early growth traits in Awassi sheep breed. *Czech Journal of Animal Science*. 45 (1): 1-5.
- SAS Institute Inc: SAS/STAT Software. 2011, Cary NC: SAS Institute Inc: Version 9.4.
- Ünal N., Akcapinar H., Atasoy F., Yakan A., Ugurlu M. (2008). Some udder traits and growth of lambs and phenotypic correlations between those of traits with milking traits and milk production measured by various milk estimation methods in Bafra sheep. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 55: 117-124.

## **Influence of parity on birth weight and growth of Travnik pramenka lambs**

### **Abstract**

The aim of the present study was to determine the influence of parity (1-5) on the birth weight and growth of Travnik pramenka lambs. The study was conducted on 94 lambs of both sexes weaned with an average age of about 70 days. The average birth weight, weaning weight, total gain and average daily gain were 4.49 kg, 20.64 kg, 16.07 kg and 225.76 g, respectively. All investigated indicators of lamb growth increased with the parity number of their mothers (from the first to the fourth), although differences in determined means were not statistically significant ( $P > 0.05$ ).

**Key words:** Travnik pramenka, parity, birth weight, growth

## Aktivnost alkalne fosfataze u sluznici tankog crijeva prasadi hranjene različitim izvorima selena

Mislav Đidara<sup>1</sup>, Ana Drašner<sup>1</sup>, Martina Pavlič<sup>2</sup>, Jakov Jurčević<sup>3</sup>, Zdenko Lončarić<sup>1</sup>, Sanela Tomljanović-Stojaković<sup>4</sup>, Marcela Šperanda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska (mdidara@fazos.hr)

<sup>2</sup>Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Gundulićeva 36b, 31000 Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Vupik plus d.o.o. Sajmište 113C, 32000 Vukovar, Hrvatska

<sup>4</sup>PPK Valpovo d.o.o. A. B. Šimića 2, 31550 Valpovo, Hrvatska

### Sažetak

Cilj rada bio je utvrditi povezanost između aktivnosti alkalne fosfataze u sluznici tankog crijeva i dodatka različitih oblika selena u obrok odbijene prasadi. Aktivnost crijevne alkalne fosfataze u sluznici duodenuma prasadi hranjene žitaricama biofortificiranim selenom (P1) bila je značajno veća u odnosu na kontrolnu skupinu (K) i skupinu hranjenu keliranim oblikom selena (P2). U sluznici ileuma aktivnost crijevne alkalne fosfataze nije se značajno razlikovala između skupina. Organski oblici selena povoljno djeluju na povećanje aktivnosti crijevne alkalne fosfataze u sluznici proksimalnoga dijela tankog crijeva te na taj način pridonose povećanju crijevne imunosti i zaštiti zdravlja prasadi u početnom razdoblju tova.

**Ključne riječi:** alkalna fosfataza, selen, crijevna imunost, tovna prasadi, biofortifikacija

### Uvod

Odbiće i razdoblje nakon njega ključno je za rast i razvoj probavnog sustava prasadi. To je razdoblje praćeno stresom koji povećava rizik za pojavu crijevnih poremećaja, proljeva, smanjene konzumacije obroka i manjeg prirasta. Negativni učinci različitih stresora pokušavaju se anulirati dodacima u hranu, između ostalih i selenom. Crijevna odnosno intestinalna alkalna fosfataza (IAP) ima aktivnu ulogu u imunskoj obrani, a koristi se i kao biomarker iste te obrane. Nalazimo ju u svim dijelovima probavne cijevi, ali se zastupljenost značajno razlikuje (Fan i sur., 2001.). Najzastupljenija je u proksimalnom dijelu tankog crijeva, a u želucu joj aktivnost nije moguća zbog izrazito kisele pH vrijednosti. Ekspresija crijevne alkalne fosfataze ovisna je o diferencijaciji enterocita uzduž kritpa – resica osi i regulirana je pomoću nekoliko transkripcijskih faktora, tiroksina, hranjivih tvari i upalnih procesa (Lackeyram i sur., 2010.). Uloge crijevne alkalne fosfataze su brojne, primarno obavlja funkciju defosforilacije toksičnih lipopolisaharida, nemetiliranih citozin – gvanozin dinukleotida te flagelina, štiti od infekcija i razvoja akutnih i kroničnih bolesti, potiče lučenja bikarbonata i održava alkalne pH vrijednosti u lumenu crijeva, razgrađuje organske fosfate i masti te sprječava prodor bakterija u krvotok (Lallès, 2010.). Selen je mikroelement koji u organizmu obavlja mnoštvo funkcija, primarna funkcija je antioksidacija reaktivnih oblika kisika pomoću 25 vrsta selenoproteina od kojih je najpoznatija glutation peroksidaza. U kombinaciji s vitaminom E, selen poboljšava reproduktivnu sposobnost mužjaka i koncepcijsku sposobnost ženki, djeluje antikancerogeno i detoksikacijski, poboljšava zdravlje vimena te osnažuje imunski sustav (Liu i sur., 2016.). Podrijetlo selena u hrani može biti organsko (selenometionin, selenocistein) ili anorgansko (selenit, selenat) (Huang i sur., 2012.).

Cilj rada bio je utvrditi povezanost između aktivnosti alkalne fosfataze u sluznici tankog crijeva i dodatka različitih oblika selena u obrok odbijene prasadi.

## Materijal i metode

### Hranidba prasadi

Za provedbu istraživanja nasumično je odabrana odbijena prasad genetske osnove PIC u dobi od 28 dana i podijeljena u 4 skupine. Svaku skupinu činilo je 10 prasadi jednakog omjera spolova, hranjenih istom smjesom (Tablica 1 i Tablica 2) s različitim izvorima selena u obroku. Kontrolna skupina (K) hranjena je bez dodatka selena. Prva pokusna skupina (P1) hranjena je obrokom na bazi kukuruza i pšenice biofortificiranih selenom. U obrok druge pokusne skupine (P2) dodan je kelirani oblik selena FRA Easy selenium dry (FRAMELCO<sup>®</sup>, Nizozemska). U obrok treće pokusne skupine (P3) dodan je organski oblik selena obogaćenih kvasaca (SEL-PLEX<sup>®</sup>, Alltech<sup>®</sup>, SAD). Konačna koncentracija selena u svim pokusnim skupinama iznosila je 0,3 ppm. Pokus je trajao 42 dana, prasad je zaklana u dobi 70 dana.

Tablica 1. Hranjiva i energetska vrijednost smjese prasadi u pokusu

Parametar	%
Sirove bjelančevine	17,51
Sirova mast	4,45
Sirova vlakna	3,70
Lizin	1,51
Metionin + cistein	0,75
Triptofan	0,23
Kalcij	0,61
Fosfor	0,52
ME, MJ/kg	13,95

Tablica 2. Sirovinski sastav smjese prasadi u pokusu

Krmivo	%
Kukuruz	40,0
Pšenica	15,0
Ječam	5,0
Sojina sačma	6,26
Soja punomasna	7,0
Repin rezanac	1,3
Sirutka sušena	7,0
Serolat	3,0
Vitaprotein 50 plus	2,0
NuProAlltech	3,0
ReproFishMicrum	3,3
Metionin dl	0,18
Lizin	0,65
$\alpha$ – treonin	0,13
Nerafinirano sojino ulje	0,74
Sol (NaCl)	0,3
Vapnenac	0,1
Monokalcij fosfat	0,32
PDFM	0,1
Mikofiks <sup>®</sup>	0,2
0,5 % px za growr (trypt+)	0,5

Faser GOLD®	3,0
MCFA aromabiotik®	0,2
Vitarocid®	0,7
Pigysweet®	0,02
Ukupno	100,0

#### Uzorkovanje tkiva i određivanje aktivnosti alkalne fosfataze

Nakon klanja prasadi i evisceracije uzeti su uzorci sluznice duodenuma i ileuma. Segmenti duljine 10 cm otvoreni su škarama te je sluznica sastrugana putem predmetnog stakalca, smrznuta u tekućem dušiku i pohranjena na  $-80^{\circ}\text{C}$  do analize. Uzorci su lizirani u puferu sastava: 50 mM tris – HCl, 150 mM NaCl, 2 mM EDTA i 1 % Triton X–100. Vrijednost pH pufera postavljena je na 8,6 jer je aktivnost alkalne fosfataze pri tom pH bila najveća. Nakon homogenizacije u trajanju 30 sekundi, uzorci su centrifugirani na 13 200 okretaja u minuti i trajanju od 15 minuta uz hlađenje na  $4^{\circ}\text{C}$ . U supernatantu su na automatskom biokemijskom analizatoru Beckman Coulter® AU400 (Njemačka) utvrđene aktivnosti alkalne fosfataze i koncentracije ukupnih proteina. Aktivnost enzima izražena je s obzirom na količinu ukupnih proteina u uzorku.

#### Statistička obrada rezultata

Utvrđeni rezultati obrađeni su statističkim programom StatSoft, Inc. (2007.) STATISTICA. Razlike između srednjih vrijednosti promatranih skupina testirane su GLM one-way ANOVA metodom te Fisherovim LSD post hoc testom na razini značajnosti  $P < 0,05$ .

#### Rezultati i rasprava

Rezultati aktivnosti crijevne alkalne fosfataze u sluznici tankog crijeva prasadi prikazani su u tablici 3.

Tablica 3. Aktivnost crijevne alkalne fosfataze (U/g proteina) u sluznici tankog crijeva prasadi hranjene dodatkom različitih izvora selena

		K Kontrola	P1 Biofortificirane žitarice	P2 Kelirani oblik Se	P3 Organski oblik Se	P -vrijednost
Duoden		376,25 <sup>A</sup>	598,35 <sup>B</sup>	408,93 <sup>A</sup>	461,87 <sup>AB</sup>	0,03795
	Min	278,68	505,49	248,66	284,71	
	Max	462,77	712,35	579,56	631,25	
	SD	66,43	88,73	122,28	162,94	
Ileum		496,14	450,50	557,37	435,31	0,50489
	Min	388,79	323,98	373,77	205,17	
	Max	634,16	629,65	836,53	536,09	
	SD	88,93	122,46	182,48	133,08	

A, B, AB različita slova pokazuju značajnu ( $P < 0,05$ ) razliku

Aktivnost crijevne alkalne fosfataze u sluznici duodenuma prasadi hranjene žitaricama biofortificiranim selenom (P1) bila je značajno ( $P < 0,05$ ) veća u odnosu na kontrolnu skupinu (K) i skupinu hranjenu keliranim oblikom selena (P2). U sluznici ileuma aktivnost crijevne alkalne fosfataze nije se značajno ( $P > 0,05$ ) razlikovala između skupina u pokusu (Tablica 3). Natrijev butirrat, esencijalna ulja i cink neki su od aditiva koji utječu na aktivnost ili ekspresiju crijevne alkalne fosfataze (Estaki i sur., 2014.; Malo i sur., 2006.). Ti dodaci utječu i na populaciju mikroorganizama probavnog sustava svinja. Slično tome dodatak selena u obroku utječe na sastav crijevne mikroflore (Zhai i sur., 2018.). Također, potvrđen je protektivni učinak selena protiv upala i tumora crijeva, smanjenje propusnosti crijevne

barijere te povećanja rezistentnosti prema negativnom djelovanju patogenih mikroorganizama (Speckmann i Steinbrenner, 2014.). Istraživanja pokazuju izravni protektivni utjecaj selena na domaćina (Falk i sur., 2018.), ali i posredni utjecaj preko modifikacije sastava crijevne flore (Zhai i sur., 2018.) odnosno produkata mikroflora, primjerice kratkolančanih masnih kiselina koje utječu na metabolizam enterocita. Sukladno prijašnjim istraživanjima i u našem istraživanju aktivnost alkalne fosfataze u sluznici duodenuma rasla je kod prasadi hranjene žitaricama biofortificiranih selenom, a donekle i u skupini hranjene organskim oblikom selena iz kvasaca, a samim time se povećala i sposobnost obrane sluznice crijeva. Iako mehanizam djelovanja selena, izravno na tkivo crijeva ili posredno preko crijevne mikropopulacije ili kombinirano, ostaje nepoznat, činjenica da selen djeluje na aktivnost crijevne alkalne fosfataze potvrđuje njegovu vrijednost u podizanju imunosne obrane organizma. Organski oblik selena (selenom biofortificirane žitarice) još jednom se pokazuje superioran ostalim oblicima (kelirani oblik) s obzirom na utvrđenu aktivnost IAP u sluznici duodenuma. Folijarno tretiranje kukuruza i pšenice izvorom selena omogućilo je biljci adsorpciju i akumulaciju selena u zrnu, a takav oblik selena ima značajnu bioiskoristivost jer se u biljci nalazi pohranjen u obliku selenometionina (Broadley i sur., 2010.). Selenometionin kojeg proizvode selenom obogaćeni kvasci, pokazao je sličan učinak na aktivnost crijevne alkalne fosfataze u duodenumu u odnosu na selen iz biofortificiranih žitarica.

Vrijednost IAP u sluznici ileuma bila je nominalno najveća u skupini hranjenoj keliranim oblikom selena. Kelirani oblici selena vezani su na druge minerale, najčešće uz cink (Zn – SeMet) i kao takvi ne mogu se apsorbirati odmah po ulasku u tanko crijevo jer se veze između dva minerala moraju pokidati kako bi usvajanje bilo učinkovito. Apsorpcija cinka primarno se odvija u jejunumu, segmentu crijeva koji se nalazi između duodenuma i ileuma. Stoga se pretpostavlja da je oslobođeni selen mogao postići veći učinak u ileumu nego u duodenumu. Fan i sur. (2001.) u svome istraživanju ovisnosti dužine resice i dubine kripte s aktivnošću enzima koje luče enterociti (crijevna alkalna fosfataza, aminopeptidaza N, saharaza, laktaza) navode kako postoje razlike u tim odnosima. Aktivnost crijevne alkalne fosfataze raste od dna kripte prema vrhu resice što znači da je alkalna fosfataza enzim apikalnih stanica crijevnih resica. Autori navode kako je enzim aktivniji u distalnim dijelovima tankog crijeva nego u proksimalnom. No kada se uspoređuje njihov rad s ovim istraživanjem, u obzir treba uzeti kako je prasadi u njihovom pokusu zaklana u dobi 14 – 18 dana, a prasadi za ovo istraživanje zaklana je u dobi 70 dana. Morfologija tankog crijeva i aktivnost enzima kod sisajuće i odrasle prasadi značajno se razlikuje zbog dobi i načina hranidbe.

## Zaključak

Organski oblici selena povoljno djeluju na povećanje aktivnosti crijevne alkalne fosfataze u sluznici proksimalnoga dijela tankog crijeva te na taj način pridonose povećanju crijevne imunosti i zaštiti zdravlja prasadi u početnom razdoblju tova.

## Literatura

- Broadley M. R., Alcock J., Alford J. (2010). Selenium biofortification of high-yielding winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by liquid or granular Se fertilisation. *Plant Soil*. 332: 5–18. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0234-4>
- Falk M., Bernhoft A., Framstad T., Salbu B., Wisløff H., Kortner T. M., Kristoffersen A. B., Oropesa-Moe M. (2018). Effects of dietary sodium selenite and organic selenium sources on immune and inflammatory responses and selenium deposition in growing pigs. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. (15): 527-536.

- Fan M. Z., Stoll B., Jiang R., Burrin D. G. (2001.). Enterocyte digestive enzyme activity along the crypt – villus and longitudinal axes in the neonatal pig small intestine. *American Society of Animal Science*. (79): 371 – 381.
- Huang Z., Rose A. H., Hoffmann P. R. (2012). The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 16 (7): 705-43. doi: 10.1089/ars.2011.4145.
- Lackeyram D. A., Yang C., Kendall T.A., Swanson C., Fan M. Z. (2010.). Early weaning reduces small intestinal alkaline phosphatase expression in pigs. *American Society for Nutrition, The Journal of Nutrition*. 140 (3): 461 – 468.
- Lallès J. P. (2010.). Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet. *Nutrition Reviews*. 68 (6): 323 – 332.
- Liu F., Cottrell J.J., Furness J.B., Rivera L.R., Kelly F.W., Wijesiriwardana U., Pustovit R. V., Fothergill L.J., Bravo D.M. (2016). Selenium and vitamin E together improve intestinal epithelial barrier function and alleviate oxidative stress in heat-stressed pigs. *Experimental Physiology*. 101 (7): 801-10.
- Malo M. S., Biswas S., Abedrapo M.A., Yeh L., Chen A., Hodin R. A. (2006). The pro-inflammatory cytokines, IL-1beta and TNFalpha, inhibit intestinal alkaline phosphatase gene expression. *DNA Cell Biology*. (25): 684-695.
- Estaki M., DeCoffe D., Gibson D. L. (2014). Interplay between intestinal alkaline phosphatase, diet, gut microbes and immunity. *World Journal of Gastroenterology*. 20 (42): 15650-15656.
- Nettleford S. K., i Prabhu, K. S. (2018). Selenium and Selenoproteins in Gut Inflammation-A Review. *Antioxidants*. 7(3): 36.
- Speckmann, B. and Steinbrenner, H. (2014). Selenium and Selenoproteins in Inflammatory Bowel Diseases and Experimental Colitis. *Inflammation Bowel Diseases*. (20): 1110–1119.

## **Intestinal alkaline phosphatase activity in piglets fed different selenium sources**

### **Abstract**

The aim of the paper was to establish impact of feeding different sources of selenium to growing piglets on intestinal alkaline phosphatase activity in small intestine mucosa. The determined activity of intestinal alkaline phosphatase in the mucosa of piglet's duodenum fed cereals biofortified with selenium (P1) was significantly higher compared to the control group (K) and the group fed the chelated form of selenium (P2). In the ileal mucosa, intestinal alkaline phosphatase activity did not differ significantly between the groups in the experiment. Organic forms of selenium have a beneficial effect on increasing the activity of intestinal alkane phosphatase in the mucosa of the proximal part of the small intestine and thus contribute to increasing intestinal immunity and protecting the health of piglets in the initial period of fattening.

**Key words:** alkaline phosphatase, selenium, intestinal immunity, growing piglets, biofortification

## Karakteristike kobiljeg mlijeka za ljudsku prehranu

Maja Gregić, Katarina Janković, Mirjana Baban, Pero Mijić, Vesna Gantner, Tina Bobić

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska (mgregic@fazos.hr)*

### Sažetak

Proizvodnja kobiljeg mlijeka na prostoru Europe kakvu danas poznajemo počela se razvijati u drugoj polovici prošlog stoljeća te se još danas širi i razvija. Cilj rada je prikazati pozitivne učinke konzumacije kobiljeg mlijeka i proizvoda na organizam ljudi. Kobilje mlijeko sadrži oko 40 biološki aktivnih komponenti potrebnih ljudskom tijelu kao što su aminokiseline, masti, enzimi, mikroelementi i vitamini u gotovo optimalnom omjeru. Svaka komponenta čini sinergiju i podupire sklad ljudskog organizma. Razvojem suvremenog društva i povećanjem svijesti o funkcionalnoj hrani razvija se paleta i slatkih prehrambenih proizvoda obogaćenih kobiljim mlijekom. Rad prikazuje pozitivne učinke konzumacije kobiljeg mlijeka na organizam čovjeka.

**Ključne riječi:** kobilje mlijeko, prehrana ljudi

### Uvod

Na prostoru Europe proizvodnja kobiljeg mlijeka kakvu danas poznajemo počela se razvijati u drugoj polovici prošlog stoljeća. Proizvodnju kobiljeg mlijeka prvi su prihvatili Talijani, Nijemci i Francuzi. Proizvodnja je kasnije zainteresirala Belgijce, Nizozemce i Norvežane. Gregić i sur. (2019.) navode godišnju proizvodnju kobiljeg mlijeka u zemljama Europske unije. Ona iznosi oko 1000 tona, te se najviše prodaje u Rusiji i Francuskoj. U Njemačkoj je registrirano oko 40 gospodarstava koji se bave proizvodnjom kobiljeg mlijeka (Gregić i sur., 2018.). Upravo zbog svog sastava, kobilje mlijeko je jedinstveni proizvod među svim vrstama mlijeka, te djeluje pozitivno na organizam čovjeka (Kushugulova, i sur., 2018.). U većini Azijskih zemalja kobilje mlijeko oduvijek je bilo cijenjeno zbog svojih ljekovitih svojstava. Kobilje mlijeko, osim u prehrambenoj, danas se koristi i u farmaceutskoj industriji. Zahtjevno tržište Europske unije prepoznalo pozitivne učinke kobiljeg mlijeka na organizam čovjeka. Zbog svog sastava, kobilje mlijeko ima pozitivne učinke na organizam konja (Kushugulova, i sur., 2018.). Procjenjuje se da u svijetu oko 30 milijuna ljudi konzumira kobilje mlijeko (Brezovečki i sur., 2014.). Kobilje mlijeko ima važna hranjiva i djelotvorna svojstva po organizam čovjeka. Može se na različite načine dehidrirati, te je lako probavljiva namirnica, te preraditi u kozmetičke i prehrambene proizvode. Na području Europe kobilje mlijeko je korišteno u skromnoj količini kao funkcionalna namirnica, u prehrani djece i prevenciji nekih bolesti. Posljednjih godina kobilje mlijeko postaje i u Hrvatskoj sve interesantniji proizvod zbog svog specifičnog sastava i svojstava te pobuđuje pozornost proizvođača i konzumenata. Istraživanje Czyżak-Runowska, i sur. (2018.) dokazuje da kobilje mlijeko ima visoku nutritivnu vrijednost, poželjan kemijski sastav te visoke količine vitamina C, što ovaj proizvod čini vrijednim potencijalnim prehrambenim proizvodom. Razvojem civilizacija i novog načina života modernog čovjeka razvija se funkcionalna hrana. To je hrana koja pomaže očuvanju zdravlja, te poboljšanju fizičkog i psihofizičkog stanja čovjeka. Među njima se ističu proizvodi od kobiljeg mlijeka. Posljednjih godina zabilježen je porast potražnje i konzumacije takvih proizvoda. Cilj rada je prikazati razloge pozitivnog učinka konzumacije kobiljeg mlijeka i proizvoda na organizam ljudi.

### Karakteristike kobiljeg mlijeka u prehrani

Kobilje mlijeko sadrži oko 40 biološki aktivnih komponenti potrebnih ljudskom tijelu: aminokiseline, masti, enzimi, mikroelementi i vitamini u optimalno uravnoteženim omjerima (Fotschki i sur., 2016.). Mlijeko kobile karakterizira velika količina laktoze (72,80 g / l, 0,03 s) i smanjeni udjel masti (6,40 g / l; 0,4 sd) i proteina (15,52 g / l, 0,11 s), posebno kazeini (13,4 g / l, 0,04 s). Albumin i kazein su vrste proteina koje daju mlijeku karakterističnu bijelu boju. Mlijeka kobile i magarice u svom sastavu pripadaju grupi albumina dok se mlijeko ostalih domaćih životinja odnosi na kazeinsku skupinu (Fotschki i sur., 2016.). Njihova razlika leži u činjenici da kazein ima grubu strukturu i zbog te se činjenice slabo apsorbira. Albumin je, kao i temeljni globulin majčinog mlijeka, fino disperzirani protein i lakše se probavlja. Kobilje mlijeko također, sadrži oko 50 % kazeina i oko 39 % proteina surutke, dok kravlje mlijeko sadrži oko 80 % kazeina. Mlijeko je jedinstveni izvor vitamina A, D, E i K (topivih u masti) B1, B6, B12 i C (topivih u vodi) i minerala (Fe, Cu, Mg, Mn, Zn i Ca) (Csapo i sur., 1997.). Prema mineralnom sastavu kobilje mlijeko je vrlo blizu majčinom (Malacarne i sur. 2002.; Pietrzak-Fiecko i Kamelska-Sadowska, 2020.; Pieszka i sur., 2016.). Mlijeko kobile sadrži aminokiseline bitne za ljudski organizam (triptofana, tirozina i kazein) (Therese i sur., 2010.a). Mliječna mast kobiljeg mlijeka gotovo je najbolja životinjska masnoća u prirodi. Zbog specifične fino disperzirane strukture, emulgira se brzo i apsorbira unutar crijeva. U mlijeku kobila udio polinezasićenih masnih kiselina,  $\Sigma$ PUFA je 22,0 % (Pietrzak-Fiecko i Kamelska-Sadowska, 2020.). Veliki udio mliječne masti sastoji se od polinezasićenih masnih kiselina omega 3 i 6 (Csapo i sur., 1997.; Malacarne i sur. 2002.; Haddad i sur., 2011.; Pietrzak-Fiecko i Kamelska-Sadowska, 2020.). Sastav mlijeka varira kroz laktaciju u broju i sadržaju određenih hranjivih sastojaka i traje sve do odgajanja ždrebadi u dobi od 5 do 8 mjeseci. Ograničavajući faktor u proizvodnji kobiljeg mlijeka je mali volumen mliječnih žlijezda (<2 L), za koji je potrebno nekoliko dnevnih mužnji (5-7 puta dnevno) raspoređenih u intervalima od 2 do 3 sata (Salimei, 2011.; Alatrović, i sur., 2017.).

### Terapeutski značaj kobiljeg mlijeka

Prema Young i George (2006.) terapeutski značaj kobiljeg mlijeka bio je poznat na cijelom području Rusije i zapadne Azije. Mongolska medicina koristila je kobilje mlijeko za liječenje kroničnog hepatitisa. Mlijeko ima i antikiselinska svojstva zbog visokog sadržaja fosfolipida i vitamina A. Upotreba kobiljeg mlijeka za liječenje oboljelih od tuberkuloze dugo se prakticira na području Rusije, Mongolije i Kazastana. Terapeutski učinak povezan je s povećanjem broja eritrocita i limfocita na normalnu razinu (brzina sedimentacije) i eritrocita (Young i George, 2006.). Probavom proteina iz kobiljeg mlijeka nastaju bioaktivni peptidi s mnogo različitih svojstava koji djeluju pozitivno na konzumenta. Oni uključuju regulatore krvnog tlaka, antimikrobne i protuupalne peptide (Therese i sur., 2010.b; Nagpal i sur., 2011.). Obzirom na glavne proteinske frakcije, kobilje je mlijeko slično humanom uz izuzetak kazeinaskog dušika (Potočnik, i sur., 2011.). Chen i sur. (2010.) navode da je kumis bogat proteinskim ACE inhibitorima (enzim koji pretvara angiotenzin) koji sudjeluju u regulaciji krvnog tlaka. Iz kumisa su izolirana i pročišćena 4 proteina: P<sub>I</sub>, P<sub>M</sub>, P<sub>K</sub> i P<sub>P</sub>. P<sub>I</sub> protein je dio  $\beta$ -kazeina u kobiljem mlijeku, P<sub>K</sub> protein odgovara f144-150 proteina citokroma C tipa NrfB, a proteini P<sub>P</sub> i P<sub>M</sub> na NCBI baza. Sva 4 proteina su ACE inhibitori koji čine kumis proizvodom koji se može upotrijebiti kao komponenta u prehrambenim funkcionalnim proizvodima (Chen i sur., 2010.). Eksperimentalne i kliničke studije dokazuju pozitivan učinak kobiljeg mlijeka na organizam ljudi (Kushugulova i sur., 2018.). Kobilje mlijeko se povezuje s pozitivnim utjecajem na imunitet, antiproliferativnim, antiagresivnim i probavnim učinkom.



## Slastičarski proizvodi s kobiljem mlijekom

Osim svježeg mlijeka, danas veliki značaj pobuđuje prerada kobiljeg mlijeka u različite desertne proizvode poput sladoleda ili čokolade. Riječ “čokolada” potječe od asteške riječi XOCOLATL, što znači „gorka voda“. Ključni sastojak čokolade, kakao, pronađen je prije 4000. godina u području Amazone. Kakao napitak korišten je i prije 1900. godine prije Krista. Kakao je obilježio kulture naroda Maya i Azteka. Dolaskom Španjolaca te prenošenje zrna kakaa u Europu započinje prerada kakaa u čokoladu (Gacometti, 2014.). Kako je Europljanima čokolada bila gorka, počeli su joj dodavati šećer, cimet i med. Brzo je osvojila Španjolsku, Italiju i Francusku gdje je bila smatrana luksuzom i rezervirana za plemiće i bogataše (Car, 2013.). Čokolada je visokovrijedna namirnica bogata hranjivim sastojcima. Zbog velikog izbora različitih čokoladnih proizvoda, sve više pažnje se posvećuje unaprjeđenju postupka prehrambenih proizvoda. Prema mnogim znanstvenim istraživanjima dokazano je da čokolada predstavlja nutritivno vrijedan proizvod u kojem je identificirano više od 800 različitih sastojaka (Komes, 2016.). Izvor je bioloških aktivnih sastojaka poput vitamina, proteina, ugljikohidrata, masti, aminokiselina, polifenola i metilksantina. Polifenoli i metilksantini u kakaovomu zrnu nalaze se u pigmentiranim stanicama kotideldona 6-8 % po težini suhog zrna (Škrabal, 2008.). Polifenoli su prirodni antioksidanti koji imaju pozitivno djelovanje na ljudsko zdravlje. U novije vrijeme razvijaju se čokolade s manjim udjelom šećera i masti te bogatim funkcionalnim sastojcima, probioticima, vitaminima i algama. Paleta okusa čokolade dosta je široka, od raznih voća i povrća do mliječnih proizvoda, poput kobiljeg mlijeka. Osnovni sastojak mliječne čokolade je mlijeko u prahu, 20% ukupne mase (Belščak-Cvitanović i sur., 2009.). Njemački slastičar Koller u svoje proizvode dodaje kobilje mlijeko. Proizvodi sladoled i distribuira ga na tržište čitave Njemačke. Njegov asortiman sadrži više od 60 različitih vrsta sladoleda koji se proizvodi ručno prema staroj tradiciji. Koller koristi prirodne sirovine iz ekoloških uzgoja. Mlijeko za pripremu sladoleda nabavlja izravno s poljoprivrednih gospodarstava, koja su specijalizirana za proizvodnju organskog mlijeka. Koller proizvodi razne kreacije sladoleda kao što su maline s fermentiranim kobiljem mlijekom ili sladoled od mlijeka s ružičastim paprom (<https://koeller-organic-manufactory.de>). Njemački slastičar koji se bavi proizvodnjom čokolade od kobiljeg mlijeka je Georg Bernardini. Proizvodi se ističu kvalitetom, kreativnošću i različitostu. Čokolada Georgia Ramon je visokokvalitetni proizvod dobiven od kobiljeg mlijeka. Mliječna čokolada bogata je vrijednim sastojcima od kakao zrna Dominikanske Republike. Riječ je o zrnu sorte Trinitario koji je posebno aromatičan. Čokolada nije samo posebno aromatična, već je i vrlo zdrava. Najvažniji sastojak ove čokolade dobiva se od mlijeka kobila sa obiteljskog imanja Zollmann u Odenwaldu. Čokolada je zbog kobiljeg mlijeka posebno bogata željezom, vitaminima i mineralima. Sastoji se isključivo od sirovina koje su proizvedene u organskom uzgoju. Organska mliječna čokolada bez glutena sadrži notu kakaa i kobiljeg mlijeka te je fine kremaste teksture. Cijena 50 g čokolade na tržištu se kreće oko 15,90 €, a 100 g 31,80 € (<https://schokomondo.de>). Prosječna hranjiva vrijednost u 100 g čokolade: Kalorična vrijednost: 2491 kJ / 595 kcal; masnoća: 43 g / od čega zasićenih masnih kiselina 23 g; ugljikohidrati: 46 g / od čega šećeri 45 g; proteini: 7 g; dijetalna vlakna: 0 g i sol: 0,05 g. Škrabal i sur. (2010.) navode zanimljivu činjenicu o senzorskoj prihvatljivosti čokolade. Senzorske analize su danas u velikoj upotrebi, posebno u prehrambenoj industriji. Određivanje senzorskih svojstava ima bitnu ulogu u razvoju kakvoće proizvoda. Navode da čokolada kao novi proizvod mora zadovoljiti očekivanja potrošača. Prema njihovom istraživanju najprihvatljivijom se pokazala čokolada u kojoj mliječna komponenta potječe od obranog mlijeka u prahu i karameliziranog mlijeka sušenog raspršivanjem. Jedan od glavnih problema kod čuvanja čokoladnih proizvoda je cvjetanje masti. U prvoj fazi dolazi

do gubitka sjaja površine čokoladnih proizvoda, dok u kasnijoj fazi proizvodi budu prekriveni sivom do bijelom prevlakom. Problem cvjetanja masti uglavnom se javlja kod čokoladnih proizvoda punjenih masnim tvarima (Nemet, 2002.).

### Zaključak

Unatoč prilično povoljnom kemijskom sastavu kobiljeg mlijeka ono je slabo zastupljeno u ljudskoj prehrani. Razvojem suvremenog društva i povećanjem svijesti o funkcionalnoj hrani razvoja se i paleta slatkih prehrambenih proizvoda obogaćenih kobiljim mlijekom. Rad prikazuje pozitivna djelovanja kobiljeg mlijeka na organizam čovjeka.

### Napomena

Rad je proizašao iz diplomskog rada Katarine Janković „Slatki prehrambeni proizvodi od kobiljeg mlijeka“ obranjen 30. rujna 2019. godine na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek.

### Literatura

- Alatrović I., Gregić M., Baban M., Bobić T., Ramljak J., Gantner V. (2017). The production technology of the mare's milk. *10<sup>th</sup> International Scientific/Professional Conference, Agriculture in Nature and Environment Protection*. Mijić P.; Ranogajec L. (eds.), 5-7 June 2017, Vukovar, Croatia 45-49.
- Belščak-Cvitanović A., Komes D., Božanić R. (2009). Mlijeko u prahu kao sirovina za proizvodnju mliječne čokolade. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*. 4 (3-4): 109-115.
- Brezovečki A., Čagalj M., Antunac N., Mikulec N., Ljoljić Bendelja Lj. (2014). Proizvodnja sastav i svojstva kobiljeg mlijeka. *Mljekarstvo*. 64 (4): 217-227.
- Car H. (2013). Čokolada za slađi početak školske godine. *Matka*, 22 (85): 12-16.
- Chen Y., Wang Z., Chen X., Liu Y., Zhang H., Sun T. (2010). Identification of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from koumiss, a traditional fermented mare's milk. *Journal of dairy science*. 93 (3): 884-892.
- Csapo J., Zsuzsanna C. K., Jozsef S., Truman G. M., Sandor N. (1997). Influence of Mastitis on D-Amino Acid Content of Milk. *Journal of Dairy Science*. 78 (11): 2375-2381.
- Czyżak-Runowska G., Wójtowski J., Niewiadomska A., Markiewicz-Keszycka M. (2018). Quality of fresh and stored mares' milk. *Mljekarstvo*. 68 (2): 108-115.
- Fotschki J., Szyc A. M., Laparra J. M., Markiewicz L. H., Wroblewska B. (2016). Immunomodulating properties of horse milk administered to mice sensitized to cow milk. *American Dairy Science Association*: 9395.
- Gaciometti J. (2014). Sva lica čokolade. 12. Festival znanosti, valovi, Rijeka.
- Gregić M., Janković K., Sekulić M., Gavran M., Baban M., Mijić P., Bobić T., Potočnik K., Dokić, D., Gantner, V. (2018). Revitalizacija uzgoja konja finalizacijom proizvoda i usluga u istočnoj Hrvatskoj. *11<sup>th</sup> International Scientific Conference Agriculture in Nature and Environment Protection*. Jug D., Brozović, B. (eds.), 28-30.05.2018. Vukovar, Croatia 154-159.
- Gregić M., Gavran M., Baban M., Gantner V., Kristić J., Bobić T. (2019). Dodana ekonomska vrijednost mlijeka kopitara kroz prehrambene proizvode unutar EU-a. *54<sup>th</sup> Croatian & 14<sup>th</sup> International Symposium on Agriculture*. Mioč B., Širić I. (eds.), Book of Abstracts. Vodice, Hrvatska, 17-22.02.2019. 204-205.
- Haddad Y., Vallerand D., Brault A., Haddad P. S. (2011). Antioxidant and hepatoprotective effects of silibinin in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. Oxford UP, 35: 8-115.
- Pieszka M., Łuszczynski J., Zamachowska M., Augustyn R., Długosz B., Hędrzak M. (2016). Is mare milk an appropriate food for people? – a review. *Annals of Animal Science*. 16 (1): 33-51.
- Pietrzak-Fiecko R., Kamelska-Sadowska A. M. (2020). Fatty acids composition of selected mammals' milk. *Proceedings of the Nutrition Society (OCE2)*, E319 79.

- Potočnik K., Gantner V., Kuterovac K., Cividini A. (2011). Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. *Mljekarstvo*. 61 (2): 107-113.
- Komes D. (2016). Čokolada kao funkcionalna hrana. *Nutricionizam & dijetetika* Zagreb: HDND, 2016. 16-17.
- Kushugulova A., Kozhakhemtov S., Sattybayeva R., Nurgozhina A., Ziyat A., Yadav H., Marotta F. (2018). Mare's milk as a prospective functional product. *Functional Foods in Health and Disease*. 8 (11): 548-554.
- Malacarne M., Martuzzi F., Summer A., Mariani P. (2002). Protein and fat composition of mare's milk: some nutritional remarks with reference to human and cow's milk. *International Dairy Journal*. 12: 869-877.
- Nagpal R., Behare P., Rana R., Kumar A., Kumar M., Arora S. (2011). Bioactive peptides derived from milk proteins and their health beneficial potentials: an update. *Food and Function*. 2 (1): 18-27.
- Nemet I. (2002). Utjecaj procesnih parametara i uvjeta čuvanja na sivljenje površine punjene čokolade, diplomski rad, Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek.
- Salimei E. (2011). *Animals that produce dairy foods e donkey*. In *Encyclopedia of dairy sciences*, 2<sup>nd</sup> ed. Edited by Fuquay JW, Fox PF, McSweeney PLH. San Diego: Academic Press, 1: 365e373.
- Škrabal S. (2008). Doprinos čokolade funkcionalnoj prehrani. *Funkcionalna hrana u Hrvatskoj*, stručni skup, Zagreb 9-12.
- Škrabal S., Ergović M., Obradović V. (2010). Senzorska prihvatljivost različitih mlječnih čokolada. *Technologica acta*, Požega 1: 21-29.
- Therese U.L., Thom H., Patrick F.F. (2010a): Equine milk proteins: Chemistry, structure and nutritional significance. *International Dairy Journal*. 20 (9): 609-629.
- Therese U. L., Thom H., Patrick F. F. (2010b). Equine milk proteins: Chemistry, structure and Functionalnutritional significance. *International Dairy Journal*. 20 (9): 609-629.
- Young W. P., George H. F. W. (2006). *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. Edited by John Wiley and Sons. Hoboken, NJ: Blackwell Publishing.
- <https://koeller-organic-manufactory.de/koeller.icecream.html> (22.09.2020.)
- <https://georgia-ramon.com/ueber-uns/> (05.10.2020.)
- <https://schokomondo.de> (05.10.2020.)

## Characteristics of mare's milk for human consumption

### Abstract

The production of mare's milk in Europe as we know it today began to develop in the second half of the last century and is still expanding and developing today. The aim of this paper is to show the reasons for the positive effect of consumption of mare's milk and products on the human body. Mare's milk contains about 40 biological components needed by the human body, amino acids, fats, enzymes, trace elements and vitamins in almost optimal proportions. Each component creates synergy and supports the harmony of the human body. With the development of modern society and the increase in awareness of functional food, a range of sweet food products enriched with mare's milk is being developed. The paper reveals promising preventive purposes of consuming mare's milk on the human.

**Key words:** mare's milk, people's nutrition

## Mišljenje mladih potrošača o kvaliteti smrznutog pilećeg mesa

Kristina Gvozdanović, Goran Kušec, Ružica Lončarić, Ivona Djurkin Kušec, Igor Kralik, Jelena Kristić, Sanja Jelić Milković, Zoran Škrtić, Zlata Kralik

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska (zkralik@fazos.hr)*

### Sažetak

Cilj istraživanja bilo je ispitati mišljenje mladih potrošača o kvaliteti zamrznutog pilećeg mesa. Prikupljanje podataka je provedeno metodom ankete gdje je kao instrument korišten anketni upitnik. Istraživanje je provedeno na uzorku od 92 studenta Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku. Rezultati istraživanja pokazali su da mladi potrošači smatraju da zamrzavanje pilećeg mesa negativno utječe na njegovu kvalitetu te da nije sigurnije za konzumaciju. Nadalje, smatraju da smrzavanje najviše utječe na promjenu boje mesa i njegovog izgleda. Rezultati provedene ankete mogu poslužiti kao okvir za buduća istraživanja drugih grupa ispitanika o mišljenju ima li smrzavanje mesa utjecaj na njegovu kvalitetu.

**Ključne riječi:** pileće meso, potrošači, zamrznuto meso, mišljenja

### Uvod

Prema podacima Ministarstva poljoprivrede RH u 2018. godini, ukupna proizvodnja pilećeg i purećeg mesa iznosila je 85000 t, dok je potrošnja svih vrsta mesa peradi u istoj godini iznosila 103007 t. Prema navedenom izvoru samodostatnost za sektor mesa peradi iznosi 89 %. Pileće meso smatra se animalnom namirnicom koja osigurava konzumentu visokokvalitetne bjelančevine i druge hranjive sastojke koji su potrebni za pravilan rast i razvoj ljudskog tijela. Stoga se pileće meso preporučuje za konzumaciju svim dobnim skupinama (Kralik i sur., 2001.). Prilikom kupovine prehrambenih proizvoda u koje se ubraja i pileće meso, konzumenti su većinom obraćali pozornost na cijenu proizvoda, ali u zadnjih desetak godina sve više obraćaju pozornost na nutritivne osobine, brend proizvoda, sigurnost proizvoda, izgled, sljedivost, dobrobit životinja i slično (Jelić Milković i sur., 2018.; Šahin, i sur., 2013.; Gajčević i sur., 2007.). Potrošači kupuju svježe ili konzervirano meso, te je stoga važno njihovo mišljenje o proizvodu prilikom kupovine. Postoji više metoda konzerviranja mesa, a zamrzavanje je jedna od najvažnijih, jer u usporedbi s drugima minimalno narušava kvalitetu tijekom skladištenja. Zamrzavanjem mesa usporavaju se biokemijski procesi u mesu, ali isto tako, dolazi do određenih poremećaja u strukturi mišićnih vlakana uslijed stvaranja kristala leda. Veličina i raspored kristala leda u stanici mišićnog vlakna i izvan njega variraju ovisno o brzini smrzavanja, dok količina nastalog leda ovisi o temperaturi postignutoj tijekom zamrzavanja (Barbut i Mittal, 1990.). Meso peradi relativno dobro podnosi tretmane zamrzavanja, pa se razina kvalitete u trenutku zamrzavanja može održavati sve dok su uvjeti skladištenja adekvatni. Rezultati istraživanja Soyer i sur. (2010.) potvrđuju da se promjene u pilećem mesu uočavaju već nakon trećeg mjeseca skladištenja u zamrzivaču, a odnose se na oksidativne promjene u mesu. Slijedom navedenog, preporuka Hrvatske agencije za hranu (2011.) je da se zamrznuto pileće meso (trup) može skladištiti godinu dana, odnosno devet mjeseci (konfekcionirano), nakon čega nije preporučljivo za upotrebu.

Cilj ovog rada bio je pomoću ankete ispitati mišljenje mladih potrošača o kvaliteti smrznutog pilećeg mesa.

## Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek s ciljem ispitivanja mišljenja mladih potrošača (studentata preddiplomskog i diplomskog studija poljoprivrede) o kvaliteti zamrznutog pilećeg mesa. Anketa je provedena na uzorku od 92 ispitanika. Anketni upitnik sastojao se od 15 pitanja od kojih su se 3 pitanja odnosila na demografska obilježja (spol, dob i mjesto stanovanja), a od ostalih pitanja obrađeno ih je 5 koja su se odnosila na učestalost kupovine i konzumacije pilećeg mesa, te na način najčešće pripreme kupljenog mesa. Još je 5 pitanja postavljeno o utjecaju zamrzavanja na kvalitetu i senzoričke pokazatelje mesa, te o načinu odmrzavanja prije uporabe. Ispitanici su na pojedina pitanja imali mogućnost višestrukog odgovora. Podaci prikupljeni provedenim anketama uneseni su u bazu podataka te su podjeljeni u dvije skupine s obzirom na mjesto prebivališta ispitanika i spol. Za opis uzorka korištena je deskriptivna analiza (frekvencija i postotci), a za utvrđivanje razlika u mišljenju ispitanika prema spolu odnosno mjestu stanovanja korišten je hi kvadrat test ( $\chi^2$ ). Podatci su obrađeni pomoću računalnog programa XLSTAT.

## Rezultati i rasprava

Anketi je pristupilo 92 ispitanika od kojih je 55 žena te 37 muškaraca, prosječne dobi od 21 godinu. U odnosu na mjesto prebivališta, 40 ispitanika bilo je iz grada, dok je njih 52 bilo sa sela. U Tablici 1. prikazani su rezultati mišljenja mladih ispitanika koja se odnose na kupovanje i konzumaciju pilećeg mesa. Ispitanici pileće meso konzumiraju nekoliko puta tjedno (68,5 %), i to žene 40,21 %, a muškarci 28,3 %, dok jednom tjedno za konzumaciju se odlučuje 17,4 % žena i 9,8 % muškaraca. Rezultati našeg istraživanja djelomično su sukladni navodima Gajčević i sur. (2007.) koji ističu da je među ispitanicima najfrekventnija tjedna konzumacija pilećeg mesa, dok su naši ispitanici od ponuđenih odgovora najčešće zaokružili da konzumiraju piletinu nekoliko puta tjedno, a onda jednom tjedno. Prema učestalosti konzumacije pilećeg mesa o obzirom na mjesto prebivališta ispitanici najčešće konzumiraju pileće meso nekoliko puta tjedno (65,2 %). Međutim, ispitanici koji imaju prebivalište u gradu značajno češće konzumiraju pileće meso jednom tjedno u odnosu na ispitanike sa sela (17,4 %, odnosno 10,8 %;  $p=0,029$ ). Rezultati su pokazali statistički značajnu razliku između ispitanika s područja grada i sela po pitanju kupovine pilećeg mesa. Ispitanici s područja grada u odnosu na ispitanike sa sela više se odlučuju za kupovinu pilećeg mesa jednom tjedno (21,4 % : 8,3 %;  $p<0,001$ ) kao i za kupovinu mesa nekoliko puta tjedno (11,9 % : 5,9 %;  $p=0,048$ ). Suprotno tome, čak 28,6 % ispitanika koji žive na selu kupuje pileće meso jednom mjesečno, za razliku od tek 8,3 % ispitanika koji prebivaju u gradu ( $p=0,004$ ). Na pitanje gdje najčešće kupujete pileće meso, najviše ispitanika (41,0 %) pileće meso kupuje u supermarketima, a najmanje ih se odlučuje za kupovinu na tržnici (4,4 %). Rezultati su pokazali da statistički značajno veći broj ispitanika ženskog spola (12,2 %) pileće meso kupuje u mesnicama, u odnosu na 2,2 % muških ispitanika ( $p=0,049$ ). Nadalje, u odnosu na mjesto prebivališta ispitanici i u gradu i u selu najčešće meso kupuju u supermarketima, no s obzirom da je čak 17,7 % ispitanika koji žive na selu na ovo pitanje ponudilo odgovor „ostalo“ može se pretpostaviti da oni imaju vlastitu proizvodnju piletine na svom obiteljskom gospodarstvu. U istraživanju predodžbe potrošača o kakvoći pilećeg mesa, Gajčević i sur (2007.) također navode da najveći broj ispitanika pileće meso kupuje u trgovačkim centrima (supermarketima), a zatim slijede mesnice i tržnice, što je sukladno rezultatima našeg istraživanja. Šahin i sur (2013.) u istraživanju stavova i preferencija ispitanika iz grada, odnosno sela prema konzumaciji pilećeg mesa, navode da ispitanici iz grada pileće meso više kupuju u mesnicama (53,7 %), a ispitanici na selu pileće meso kupuju u supermarketima (70,5 %). Za razliku od navedenih autora u našem istraživanju prema mjestu prebivališta tendencija kupovine pilećeg mesa svih ispitanika je u supermarketu.

Nadalje, isti autori navode da čak 84,2 % ispitanika u gradu najčešće kupuju pile u trupu, a nešto manje njih konfekcionirane trupove (15,8 %), što nije sukladno našim rezultatima. Kod ispitanika na selu u navedenom istraživanju onih koji kupuju pileći trup je 58,9 %, dok 41 % kupuje konfekcionirani trup, što je u skladu s našim rezultatima. Statistički značajna razlika između ispitanika uočena je kod kupovine konfekcioniranog pilećeg mesa odnosno, ispitanici s područja grada (27,2 %) statistički značajno više ( $p=0,022$ ) kupuju pileći batake i zabatke u odnosu na ispitanike sa sela (22,2 %). Najveći broj ispitanika na pitanje kako najčešće pripremaju pileće meso odgovorilo je da ga za konzumaciju najčešće pripremaju u obliku pečenog mesa (65,6 %). Za ovakvu pripremu piletine odlučuje se 40,6 % muškaraca odnosno 25,0 % žena. Najmanje se odlučuju za pripremu i konzumaciju kuhanog pilećeg mesa (10,5 %). Na pitanje načina pripreme obroka od piletine statistički značajna razlika je uočena između ispitanika s područja grada i sela ( $p=0,011$ ), gdje je 34,4 % ispitanika s područja grada odgovorilo da konzumira pečeno pileće meso što je više u odnosu na 31,3 % ispitanika s područja sela.

U Tablici 2. je prikazano mišljenje mladih potrošača o zamrzavanju pilećeg mesa. Iz tablice je vidljivo da najviše ispitanika svježe meso zamrzava odmah nakon kupovine (76,1 %), i to statistički više ( $p=0,001$ ) rade žene (51,1 %) u odnosu na muškarce (25,0 %). Također je važno za naglasiti da postoji značajna razlika između spolova u skladištenju pilećeg mesa nekoliko dana u hladnjaku, odnosno statistički značajno više muškaraca (9,8 %) na ovakav način skladišti meso u odnosu na žena (9,8 %: 5,4 %;  $p=0,046$ ). Benli (2016.) navodi da 75 % potrošača u Turskoj piletinu kupuje barem jednom tjedno, a njih 82,16 % dio kupljenog svježeg mesa zamrzavaju. Nadalje, navodi da 43,49 % konzumenata smatra da zamrzavanje pilećeg mesa nema utjecaja na kvalitetu, dok veći dio njih (56,51 %) smatra da zamrzavanje utječe na kvalitetu, kako pozitivno tako i negativno, što je sukladno našim rezultatima.

Također, statistički značajno više ( $p=0,024$ ) ispitanika s prebivalištem na selu u odnosu na ispitanike u gradu smatra da zamrzavanje utječe na izgled mesa (11,1 %:1,2 %), dok promatrajući utjecaj spola više žena (6,2 %) u odnosu na muškarce (3,7 %) smatra da proces zamrzavanja najviše utječe na promjenu boje mesa ( $p=0,049$ ). Od ukupnog broja ženskih ispitanika, 38 % ih smatra da zamrznuto meso nije sigurnije za upotrebu od svježeg mesa, a 21,7 % smatra da zamrzavanje pozitivno utječe na sigurnost mesa, dok 12,0 % muških ispitanika smatra da je zamrznuto meso sigurnije, a njih 28,3 % nije takvog mišljenja ( $p>0,05$ ). Prema mjestu prebivališta, 37,0 % ispitanika s prebivalištem na selu, te 29,3 % ispitanika s prebivalištem u gradu smatra da zamrznuto meso nije sigurnije za upotrebu od svježeg mesa. Na pitanje o načinu odmrzavanja pilećeg mesa najviše ispitanika piletinu odmrzava tako što je ostavi na kuhinjskom pultu nekoliko sati. Na ovaj način odmrzavanja mesa odluči se 28,4 % žena odnosno 16,8 % muškaraca. Ukoliko promatramo načine odmrzavanja piletine sa stajališta mjesta prebivanja, također se način odmrzavanja mesa na pultu najčešće koristi i za to se odlučuje 27,3 % osoba sa sela i 21,6 % osoba iz grada.



Tablica 2. Mišljenje mladih potrošača o zamrzavanju pilećeg mesa

Pitanja za ispitivanje	Ukupno, %		Spol				Mjesto prebivališta							
	Ukupno, %	Muški	Ženski		Grad		Selo		Ukupno, %	N	%	N	%	P
			N	%	N	%	N	%						
<b>Kako skladištite svježe pileće meso koje niste iskoristili nakon kupovine?</b>														
skladitim ga nekoliko dana u hladnjaku (vodeći računa o roku trajanja)	15,2	9	9,8	5	5,4	0,046*	15,2	9	9,8	5	5,4	n.s.		
meso zamrzavam odmah nakon kupovine	76,1	23	25,0	47	51,1	0,001***	76,1	30	32,6	40	43,5	n.s.		
ostalo	8,7	5	5,4	3	3,3	n.s.	8,7	1	1,1	7	7,6	n.s.		
<b>Smatrate li da je zamrznuto meso sigurnije za upotrebu u odnosu na svježe?</b>														
da	33,7	11	12,0	20	21,7	n.s.	33,7	13	14,1	18	19,6	n.s.		
ne	66,3	26	28,3	35	38,0	n.s.	66,3	27	29,3	34	37,0	n.s.		
<b>Smatrate li da zamrzavanje mesa utječe na kvalitetu pilećeg mesa?</b>														
da-pozitivno	15,1	6	6,4	8	8,7	n.s.	15,2	7	7,6	7	7,6	n.s.		
da-negativno	54,3	21	22,8	29	31,5	n.s.	54,3	23	25,0	27	29,3	n.s.		
ne-kvaliteta mesa jednaka je kvaliteti svježeg mesa	30,5	10	10,9	18	19,6	n.s.	30,5	10	10,9	18	19,6	n.s.		
<b>Na koje od navedenih svojstava mislite da smrzavanje najviše utječe ?</b>														
tvrdća	17,3	5	6,2	9	11,1	n.s.	17,3	8	9,9	6	7,4	n.s.		
izgled	12,4	5	6,2	5	6,2	n.s.	12,3	1	1,2	9	11,1	0,024*		
boja	9,9	3	3,7	5	6,2	0,049*	9,9	3	3,7	5	6,2	n.s.		
miris i okus	39,5	14	17,3	18	22,2	n.s.	39,4	16	19,7	16	19,7	n.s.		
nešto drugo	21,0	6	7,4	11	13,6	n.s.	20,9	10	12,3	7	8,6	n.s.		
<b>Ukoliko odmrzavate pileće meso koju metodu odmrzavanja koristite?</b>														
odmrzavanje u hladnjaku (12 -24 sata)	15,8	8	8,4	7	7,4	n.s.	14,7	6	5,9	9	8,8	n.s.		
odmrzavanje na kuhinjskom pultu nekoliko sati	45,2	16	16,8	27	28,4	n.s.	48,9	22	21,6	28	27,3	n.s.		
odmrzavanje u toploj vodi	33,7	12	12,6	20	21,1	n.s.	31,2	15	14,6	17	16,6	n.s.		
odmrzavanje pod toplom vodom iz slavine	2,2	1	1,1	1	1,1	n.s.	1,9	0	0,0	2	1,9	n.s.		
odmrzavanje u mikrolvalnoj pećnici	1,1	1	1,1	0	0,0	n.s.	1,0	0	0,0	1	1,0	n.s.		
kuhanje bez odmrzavanja	2,2	0	0,0	2	2,2	n.s.	1,9	0	0,0	2	1,9	n.s.		

n.s. – nema statistički značajne razlike; p&lt;0,001 \*\*\*; p&lt;0,05



## Zaključak

Prema rezultatima našeg istraživanja većina ispitanika smatra da zamrznuto pileće meso nije sigurnije za konzumaciju u odnosu na svježe, te da ovaj način konzerviranja mesa ima negativan utjecaj na kvalitetu pilećeg mesa, posebno na svojstvo boje. Iz provedene ankete može se uočiti da mladi rado kupuju i konzumiraju pileće meso, te vode brigu o načinu njegovog čuvanja, odmrzavanja i pripreme. Stoga smatramo da rezultati provedene ankete mogu poslužiti kao okvir za buduća istraživanja drugih grupa ispitanika o ovoj temi.

## Napomena

Podatci korišteni u ovom radu dio su projekta „Utjecaj dužine čuvanja smrznutog pilećeg mesa na svojstva kvalitete“ istraživačkog tima Kvaliteta i sigurnost animalnih proizvoda Fakulteta Agrobiotehničkih znanosti Osijek.

## Literatura

- Barbut S., Mittal G. S. (1990). Influence of the freezing rate on the rheological and gelation properties of dark poultry meat. *Poultry Science*. 69 (5): 827-832.
- Benli H. (2016). Consumer Attitudes Toward Storing and Thawing Chicken and Effects of the Common Thawing Practices on Some Quality Characteristics of Frozen Chicken. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 29 (1): 100-108.
- Gajčević Z., Kralik I., Tolušić Z., Kralik G., Tolušić M. (2007). Predodžba potrošača o kakvoći pilećeg mesa. *Krmiva*. 49 (2): 103-108.
- Jelić Milković S., Lončarić R., Kristić J. (2018). Potrošačke preferencije mladih potrošača prilikom kupnje prehrambenih proizvoda. *Agroeconomia Croatica*. 8 (1): 1-12.
- Kralik G., Škrtić Z., Galonja M., Ivanković S. (2001). Meso pilića u prehrani ljudi za zdravlje. *Poljoprivreda*. 7 (1): 32-36.
- Şahin A., Yıldırım I., Deniz A. (2013). Attitudes and preferences of urban and rural households towards chicken meat consumption: Case study of Hakkari, Turkey. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 11 (3 & 4): 29-34.
- Soyer A., Özalp B., Dalmış Ü., Bilgin V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry*. 120: 1025-1030.
- <https://poljoprivreda.gov.hr/print.aspx?id=1345&url=print> (pristupljeno 26.10.2020.)
- [https://www.hah.hr/pregled-upisnika/?preuzmi\\_misljenje=13](https://www.hah.hr/pregled-upisnika/?preuzmi_misljenje=13) (pristupljeno 26.10.2020.)

## Young consumers' opinion on quality of frozen chicken meat

### Abstract

The aim of this study was to investigate the opinion of young consumers about the quality of frozen chicken meat. Data collection was conducted using a survey method where a questionnaire was used as an instrument. The study was conducted on a 92 students of the Faculty of Agrobiotechnical Science Osijek. The obtained results showed that young consumers opinion is that freezing the chicken meat have negative affects on its quality and that it is not safer for consumption. Furthermore, they think that freezing has influence on the change of the meat color and its appearance. The obtained results can serve as a framework for future research on other groups and their opinion about the influence of freezing on the quality of chicken meat.

**Key words:** chicken meat, consumers, frozen meat, opinions

## Ekološki uzgoj goveda sustavom krava-tele u Hrvatskoj

Ana Kamber<sup>1</sup>, Nikolina Kelava Ugarković<sup>2</sup>, Zvonimir Prpić<sup>2</sup>, Mateja Pećina<sup>2</sup>, Miljenko Konjačić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>OPG Ana Kamber, Velika Peratovica 120, 43290 Grubišno Polje, Hrvatska

<sup>2</sup>Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska  
(mkonjacic@agr.hr)

### Sažetak

U Hrvatskoj je posljednjih godina prisutan konstantan trend povećanja broja ekoloških poljoprivrednih gospodarstava i površina pod ekološkom proizvodnjom, pri čemu je tijekom posljednjih pet godina zamjetno osjetnije povećanje broja ekološki uzgajanih goveda. Cilj rada je prikazati odlike ekološkog uzgoja goveda sustavom krava-tele, kao i izazove s kojima su suočeni ekološki proizvođači goveda u sustavu krava-tele budući da je to jedan od glavnih sustava držanja goveda u ekološkoj proizvodnji. Do razvoja ovog sustava uzgoja goveda u Hrvatskoj je došlo osobito tijekom posljednja dva desetljeća kao odgovor na izazove s kojima je suočena domaća govedarska proizvodnja, a jedan od glavnih je osiguranje dostatnog broja teladi za proizvodnju govedeg mesa.

**Ključne riječi:** ekološko stočarstvo, telad, proizvodnja mesa

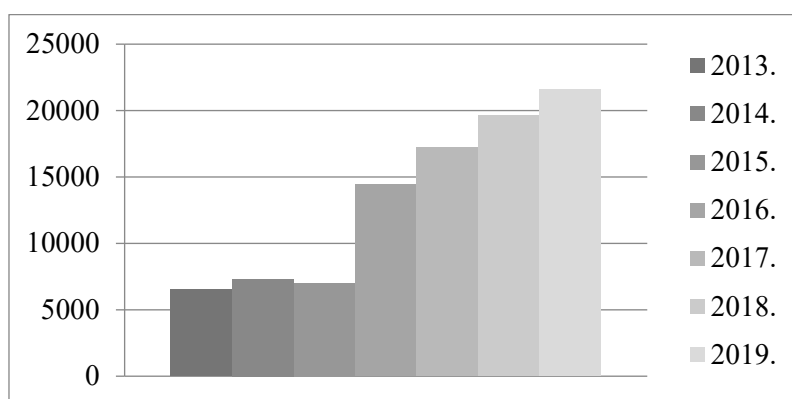
### Uvod

Ekološka poljoprivreda predstavlja složen sustav proizvodnje hrane točno definiranih postupaka i pravila čiji je rezultat proizvod obilježen oznakom ekološkog proizvoda. Dok se u konvencionalnoj poljoprivredi primjenjuju umjetna gnojiva, pesticidi, hormoni, kao i genetski modificirani organizmi, ekološka poljoprivreda teži održivom razvoju, kvalitetnijim proizvodima te korištenju obnovljivih izvora energije. Ova vrsta proizvodnje u svijetu je u porastu, osobito u razvijenim zemljama s većom platežnom moći stanovništva (potrošača). Naime, poljoprivredni proizvodi dobiveni na ekološki prihvatljiv način su od 20 do čak 100 % skuplji u odnosu na konvencionalno proizvedene.

Također, u Republici Hrvatskoj prisutan je konstantan porast broja ekoloških poljoprivrednih gospodarstava, kao i površina pod ekološkom proizvodnjom. Tijekom posljednjih pet godina i ukupan broj goveda u ekološkom uzgoju prati navedene trendove. Sustav krava-tele najčešće podrazumijeva ekstenzivan uzgoj goveda u kojem goveda veći dio godine provode vani što ga čini idealnim za ekološku proizvodnju, a usmjeren je postizanju jeftine proizvodnje govedeg mesa. Sustav se temelji na što manjem učešću ljudskog rada, na niskim troškovima hranidbe i ulaganja u stajске objekte, a jedini tržišni proizvod je tele, pretežno namijenjeno daljnjem tovu. Procjena autora na temelju dosadašnjih spoznaja je da se u ovakvom sustavu uzgoja goveda u Republici Hrvatskoj drži 10 000 – 12 000 krava. Ukupan broj krava dojilja je veći, no ne drže se sve u klasičnom sustavu krava-tele. Organizaciju ovog tipa govedarske proizvodnje u Republici Hrvatskoj omogućuju velika travnata prostranstva, povoljni agro-ekološki uvjeti. Posebna prilika za sustav krava-tele je i mogućnost ekološke certifikacije gotovog proizvoda. Naime, budućnost poljoprivrede u maloj državi poput naše treba, između ostaloga, temeljiti na proizvodnji ekoloških, visoko kvalitetnih i brendiranih proizvoda, budući da se po veličini proizvodnje ne možemo mjeriti s velikim europskim i svjetskim zemljama.

## Ekološko stočarstvo

Prema Caputu (1996.) sustavi govedarske proizvodnje se mogu klasificirati na različite načine, no klasifikacija bilo kojeg sustava podrazumijeva definiciju izvora troškova, procesa proizvodnje i proizvoda. Također, mnogi čimbenici određuju proizvodne sustave, a oni se mogu svrstati u tri kategorije: ekološki, biološki i socio-ekonomski (Jasiorowski i Quick, 1987.; Caput, 1996.). Socio-ekonomski čimbenici su najkompleksniji čimbenici stočarske proizvodnje, a odnose se prvenstveno na ponudu i potražnju, input-output cijene te na kulturne, religiozne i političke uvjete koji su vrlo važni (između ostaloga uključuju i europsko i nacionalno zakonodavstvo). Prema podacima Državnog zavoda za statistiku (2020.), u 2015. godini u Hrvatskoj su ekološki uzgajana 7 002 goveda što je tada činilo tek 1,5 % ukupnog broja goveda uzgajanih u Hrvatskoj. Međutim, prema službenim podacima za 2019., u Republici Hrvatskoj se na ekološki način uzgajalo 21 588 goveda, što čini 5,1 % ukupnog broja goveda uzgajanih u Hrvatskoj (Ministarstvo poljoprivrede, 2020.). Iz podataka prikazanih na grafikonu 1. razvidno je znatno povećanje broja goveda uzgajanih po ekološkim načelima u razdoblju od 2016. godine (kada se počela primjenjivati obveza držanja stoke na ekološkim pašnjacima i to najmanje prosječno 0,5 uvjetnih grla godišnje po prihvatljivom hektaru ekološkog pašnjaka (NN, 20/2016.)). Do navedenog povećanja broja goveda u ekološkoj proizvodnji došlo je uslijed obaveze primjene navedenog uvjeta, naime bez stoke nije bilo moguće ostvariti izdašnu potporu na pašnjačke površine u ekološkoj proizvodnji.



Grafikon 1. Broj goveda u ekološkoj proizvodnji u Republici Hrvatskoj od 2013. do 2019. godine (Ministarstvo poljoprivrede, 2020.)

Stočarska proizvodnja ima velik značaj u organizaciji poljoprivredne proizvodnje na ekološkim gospodarstvima jer osigurava potrebne organske i hranjive tvari potrebne tlu. Time doprinosi poboljšanju tla, povećanju razine humusa u tlu te razvoju održive poljoprivrede. Također, posebnu pažnju treba obratiti na sprječavanje onečišćenja okoliša, posebice tla i vode odgovarajućim zbrinjavanjem otpada iz stočarske proizvodnje. Određivanjem gornje granice za korištenje gnojiva i za držanje stoke (po ha), kao i odgovarajućim sustavom višegodišnjeg plodoreda i hranidbe stoke ekološki proizvedenim krmivima vodi se briga o okolišu. Gornja granica za korištenje gnojiva i za držanje stoke povezana je sa sadržajem dušika i ne smije premašivati 170 kg dušika po hektaru poljoprivredne površine. Uzgoj životinja na ekološki prihvatljiv način usko je povezan s boravkom na otvorenim prostorima i pašnjacima. Samim time poštuju se i visoki standardi dobrobiti životinja. Zakonodavna obveza o dobrobiti životinja u Europskoj uniji predstavljena je Amsterdamskim ugovorom iz 1997. godine. Njime su životinje definirane kao živa bića, a ne više kao poljoprivredno dobro. Zaštitu zdravlja stada u ekološkoj proizvodnji treba temeljiti na sprječavanju bolesti posvećivanjem pozornosti uvjetima držanja i hranidbi (Uremović i sur., 2008.; Senčić i sur., 2011.). Za stočarsku proizvodnju

se, osim općih pravila proizvodnje na poljoprivrednim gospodarstvima, primjenjuju i pravila vezana uz nabavu životinja koje moraju potjecati iz ekološke proizvodnje. Budući da je takvih životinja još uvijek malo, ponekad je (u praksi) vrlo teško nabaviti životinje koje potječu iz ekološkog uzgoja. U tom slučaju dopuštena je kupnja iz konvencionalnog uzgoja, no uz ograničenje broja i uz posebne kriterije i uvjete propisane Uredbom Vijeća (EZ) br. 834/2007., Uredbom Komisije (EZ) br. 889/2008. i Novom Uredbom (EU) 2018./848. Pri osnivanju stada mogu se nabaviti mlada sisavci iz konvencionalnog uzgoja koji se zatim, odmah po odbiću, uzgajaju prema pravilima ekološke proizvodnje, a telad u tom slučaju ne smije biti starija od šest mjeseci. Postupak kupnje životinja iz konvencionalnog uzgoja mora odobriti nadležno tijelo i treba proći propisano prijelazno razdoblje koje, za ekološku govedarsku proizvodnju, iznosi 6 mjeseci, a za pašnjačke površine 24 mjeseca.

### Sustav krava-tele

Sustav krava-tele ekstenzivan je sustav držanja sa svrhom postizanja jeftine proizvodnje govedeg mesa. Podrazumijeva uzgoj u kojem goveda veći dio godine provode vani, odnosno ulaze u staju samo kada vremenske prilike to uvjetuju, te izlaze na pašnjake čim to prilike dozvole, ili u nekim slučajevima uopće ne koriste staje. Osnovu ovog sustava čine krave mesnih ili kombiniranih pasmina (genotipova), dok sirovinsku bazu čine pašnjaci (prirodni i sijani), uz dio oraničnih površina za pripremu hrane koja se koristi u zimskom razdoblju (Knežević i sur., 2005.). Odabir pasmine za ovaj sustav uzgoja treba biti prije svega prilagođen agroekološkim uvjetima, a zatim potrebama i zahtjevima tržišta. Važan je koliko i odabir tehnologije proizvodnje jer bez primjerene pasmine, teško će biti postići očekivani rezultat. Pri odabiru pasmine važno je da teljenja budu laka, a plodnost visoka budući da je tele jedini izvor prihoda. Selekcija goveda prema većim trupovima, visokim dnevnim prirastima ili visokom randmanu dovela je do narušavanja određenih odlika, npr. otpornosti i plodnosti. U proizvodnji mesa, uz mesne pasmine mogu se koristiti kombinirane, autohtone ili mliječne pasmine, no uz prilagodbu tehnologije određenoj pasmini (Ivanković i Mijić, 2020.). Telad najčešće uz majke ostaje 6 do 7 mjeseci, nakon čega se usmjerava u različite oblike tova, ovisno o uvjetima tržišta i zahtjevima potrošača ili odlazi izravno na klanje. Osim navedenog, dio teladi uzgaja se za rasplod, za vlastite potrebe remonta stada (8-10 %) te za prodaju, najčešće kao bređe junice (Džakula, 2019.).

Osnovne prednosti ovog sustava su bolja iskorištenost travnjačkih površina i proizvodnja dovoljne količine vlastite teladi za proizvodnju govedeg mesa, no glavni nedostatak je što krava godišnje oteli i othrani najčešće jedno tele. Ovakav, najčešće skroman godišnji prihod često nije konkurentan drugim, intenzivnijim sustavima govedarske proizvodnje. Budućnost razvoja ovog sustava treba temeljiti na organizaciji ekoloških tovilišta jer time se dobiva veća količina ekološki certificiranog kvalitetnog mesa. Naime, trenutno povećanje broja stoke u ekološkoj proizvodnji nije u pozitivnoj korelaciji s povećanjem količine ekološkog mesa na tržištu budući da većina teladi iz ekološkog sustava krava-tele završava u konvencionalnim sustavima tova, a tek manji dio u izravnoj prodaji s ekološkim certifikatom (Džakula, 2017.). Problem zbog kojeg tov ekološke junadi u Republici Hrvatskoj još nije zaživio u dovoljnoj mjeri predstavlja ekološka proizvodnja krme tradicionalno korištene u tovu - kukuruza i kukuruzne silaže. Ovo krmivo je vrlo teško proizvesti u ekološkoj proizvodnji, skupo je, a veliku štetu rade i divlje svinje. Iz tog razloga iznalaze se druga rješenja, poput hranidbe silažom i sjenažom sirka, ljulja i leguminoza, dok se energetski dio obroka nastoji zamijeniti žitaricama koje se mogu jednostavno i jeftino proizvesti (ječam, zob, pšenica). No za sve navedeno, potrebno je mnogo znanja, a dostupni pokazatelji o obrazovnoj i dobroj strukturi seoskog stanovništva, također, ne idu u prilog primjeni ovakvih tehnologija.

## Zaštita zdravlja stada i načela uzgoja

Općenita načela programa uzgoja goveda sustavom krava-tele i upravljanje zdravljem stada u takvom sustavu moguće je opisati kroz nekoliko principa. Ti principi neizbježno uključuju dijagnostiku graviditeta, procjenu uzgojnih vrijednosti bikova namijenjenih za prirodni pripust te programe savjetovanja o profilaktičkom cijepljenju i liječenju bolesti (Campbell i Jelinski, 2006.). Sve korištene metode prvenstveno se moraju okrenuti pitanju biološke sigurnosti i sigurnosti hrane, budući da se radi o proizvodnji mesa, odnosno hrani za ljude. Iskusni uzgajivači goveda pašnim sustavom držanja rutinski provode većinu komponenti programa uzgoja i svi se slažu da, u usporedbi s ostalim sustavima držanja, imaju mnogo manje problema sa zdravljem stada. Zdravlje životinja u ekološkoj proizvodnji održava se poticanjem prirodne imunološke zaštite kao i odabirom odgovarajućih pasmina i stočarske prakse koja je prilagođena lokaciji na kojoj se uzgoj odvija. Važno je skrbiti za visoku razinu dobrobiti uz poštivanje potreba životinja za hranom i smještajem s obzirom na vrstu kojoj pripadaju te uz odgovarajuće mjere čišćenja i dezinfekcije zgrada i objekata za držanje životinja proizvodima koji su odobreni za upotrebu u ekološkoj proizvodnji, a navedeni su u Prilogu VII Uredbe Komisije (EZ) br. 889/2008.

Prirodna imunološka zaštita dolazi od uzgojne prakse koja uključuje redovito kretanje i pristup otvorenim prostorima i pašnjacima gdje su goveda izložena pozitivnim učincima sunca radi sinteze vitamina D i njegovog učinka kao bioregulatora u pravilnoj regulaciji kalcija i fosfora. Redovito kretanje potiče imunološki sustav i jača prirodnu obranu od bolesti. Bolesti se liječe odmah po dijagnosticiranju kako bi se izbjeglo da životinje trpe, a kemijski sintetizirani alopatski veterinarski lijekovi (uključujući antibiotike) smiju se upotrebljavati samo prema potrebi i pod strogim uvjetima kada primjena fitoterapeutskih, homeopatskih i drugih proizvoda nije primjerena. Preventivna upotreba kemijski sintetiziranih alopatskih lijekova u ekološkom uzgoju nije dopuštena, a kada je upotreba nužna provodi se mjera udvostručenja roka karence nakon korištenja.

## Zaključak

Proizvodnja teladi sustavom krava-tele na ekološki prihvatljiv način ima perspektivu, posebice u maloj zemlji kao što je Hrvatska. Međutim, iako je razvoj ovog sustava uzgoja teladi prisutan tijekom posljednja dva desetljeća kao odgovor na izazove s kojima je suočena nacionalna govedarska proizvodnja, od čega je jedan od glavnih osiguranje dovoljnog broja teladi za proizvodnju govedeg mesa, iz dostupnih podataka nije realno za očekivati da će se u doglednoj budućnosti uspjeti namiriti konstantan višegodišnji manjak teladi na domaćem tržištu. Sustav krava-tele ekološki je prihvatljiv, životinje se drže na pašnjacima, uz racionalnije iskorištavanje zemljišta i uz, posljedično, nižu razinu zagađenja okoliša. Na ovaj način uzgoja dobivamo bolju i zdraviju telad koja u tov odlaze kao formirani preživaci, a sve uz minimalan utrošak sredstava. Vrlo je važno što je ova proizvodnja financijski manje opterećena od konvencionalne, a ujedno su manji zahtjevi za ljudskim radom što je od posebne važnosti s obzirom na nepovoljnu dobnu, odnosno demografsku strukturu seoskog stanovništva u Hrvatskoj. Također, ekološkom certifikacijom sustava krava-tele dobiva se prepoznatljiv proizvod tražen osobito na inozemnom tržištu.

## Literatura

Amsterdamski ugovor (1997). Hrvatski prijevod teksta podložen pravno-jezičnoj redakciji.  
Raspoloživo:  
[http://www.mvvp.hr/custompages/static/hrv/files/EUugovori/11997D\\_Ugovor\\_iz\\_Amsterdama\\_hrv.pdf](http://www.mvvp.hr/custompages/static/hrv/files/EUugovori/11997D_Ugovor_iz_Amsterdama_hrv.pdf)

- Campbell R. J., Jelinski M. (2006). Herd health in cow/calf operations in North America (A Western Canadian perspective). U: XXIV. World Buiatrics Congress, Nice, France. Raspoloživo: <https://www.researchgate.net/publication/228381835>
- Caput P. (1996). Govedarstvo. Celeber d.o.o., Zagreb.
- Džakula R. (2017). Ekološko govedarstvo. Objavljeno u: Zbornik predavanja 12. Savjetovanja uzgajivača goveda u Republici Hrvatskoj, Ivkić Z. (ur.), 25. i 26. siječnja 2017. godine, Sisak, Hrvatska, Hrvatska poljoprivre dna agencija. 40–43.
- Džakula R. (2019). Održivi uzgoj mesnih pasmina goveda – Primjer iz prakse. Objavljeno u: Zbornik predavanja 14. Savjetovanja uzgajivača goveda u Republici Hrvatskoj, Barać Z. (ur.), 30. i 31. siječnja 2019. Plitvička jezera, Hrvatska, Ministarstvo poljoprivrede. 92–95.
- Jasiorowski H.A., Quick A.J. (1987). Cattle Production Systems in Practice. Amsterdam, Netherland: Elsevier Sci. Publishers.
- Knežević M., Perčulija G., Bošnjak K., Leto J., Vranić M. (2005). Tehnološko-tehničke osnove sustava krava tele. Objavljeno u: Zbornik predavanja 2. Savjetovanja uzgajivača goveda u Republici Hrvatskoj, Bulić V. (ur.), 28–33. Zagreb, Hrvatska: Hrvatski stočarski centar.
- Ivanković A., Mijić P. (2020). Govedarstvo. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu.
- Ministarstvo poljoprivrede (2020). Statistika. Zagreb: Ministarstvo poljoprivrede. Raspoloživo: <https://poljoprivreda.gov.hr/statistika-360/360> Državni zavod za statistiku (2020). Priopćenje Državnog zavoda za statistiku. Raspoloživo: <http://www.dzs.hr/PXWeb/sq/1f617e7-b531-461f-86a3-5f837740d7b0>
- Senčić Đ., Antunović Z., Mijić P., Baban M., Puškadija Z. (2011). Ekološka zootehnika. Osijek: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Uredba komisije (EZ) br. 889/2008 od 5. rujna 2008. Raspoloživo: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:02008R0889-20160507&from=EN>
- Uredba vijeća (EZ) br. 834/2007 od 28. lipnja 2007. Raspoloživo: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32007R0834&from=EN>
- Uredba (EU) 2018/848 Europskog parlamenta i Vijeća od 30. svibnja 2018. Raspoloživo na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/hr/TXT/?uri=CELEX%3A32018R0848>
- Uremović Z., Uremović M., Filipović D., Konjačić M. (2008). Ekološko stočarstvo. Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

## Organic cattle farming by cow-calf system in Croatia

### Abstract

In recent years, there has been a constant trend of increasing the number of organic farms and areas under organic production in Croatia, with a noticeable increase in the number of organically raised cattle over the last five years. The aim of this paper is to present the characteristics of organic cattle farming by the cow-calf system, as well as the challenges faced by organic cattle producers in the cow-calf system since it is one of the main systems of keeping cattle in organic production. The development of this system of cattle farming in Croatia has occurred especially during the last two decades in response to the challenges faced by domestic cattle production, and one of the main ones is to ensure a sufficient number of calves for beef production.

**Key words:** organic farming, calves, meat production

## Grada, svojstva i obrada kože domaćih životinja

Nikolina Kelava Ugarković, Ana Kaić, Miljenko Konjačić, Zvonimir Prpić

*Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za specijalno stočarstvo, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (mkonjacic@agr.hr)*

### Sažetak

Prema Pravilniku (87/2009.) kožu čine sva kutana i subkutana tkiva životinja. Kožu životinja čovjek je počeo koristiti za izradu obuće i odjeće još prije 30 000 godina i do danas je ostala cijenjena sirovina u izradi svakodnevnih, ali i luksuznih predmeta. Stoga je cilj rada opisati gradnju, svojstva i načine obrade kože domaćih životinja. Veličina, masa i kvaliteta sirove kože ovisi o tehnologiji uzgoja životinja, kvaliteti krmiva, pasmini, uvjetima prijevoza živih životinja te postupcima tijekom klanja i obrade trupa. Obrada sirove kože uključuje klanje i skidanje kože s trupa, odstranjivanje dlake, ostataka mesa i masnog tkiva te kemijsko-mehaničke postupke koji koži daju dugotrajnost i otpornost.

**Ključne riječi:** nusproizvodi životinjskog podrijetla, sirova koža, fizikalna svojstva

### Uvod

Sukladno Pravilniku o nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi (NN 87/2009.) koža se skupa s papcima, rogovima, čekinjama i perjem podrijetlom od životinja zaklanih u klaonici, koje su na temelju *ante mortem* pregleda proglašene prikladnima za klanje, ubraja u materijal Kategorije 3. Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN 99/2007.) definira da se s trupa i drugih dijelova tijela životinja namijenjenih prehrani ljudi koža mora u potpunosti skinuti, osim kod svinja, ovčjih, kozjih i telećih glava, njuški i usana goveda te goveđih, ovčjih i kozjih nogu. Takva koža naziva se sirovom, dok je obrađena koža sušena, suho ili mokro soljena koža. Suho ili mokro soljenom sirovom kožom smatra se sva koža koja je 14 dana prije otpreme: a) soljena najmanje sedam dana morskom soli uz dodatak od 2 % natrij karbonata, b) sušena 42 dana na temperaturi od najmanje 20°C, c) konzervirana postupkom različitim od štavljenja, u skladu s odgovarajućim posebnim propisima (87/2009.). Obzirom na brojnost populacije goveda (oko 1 659 milijuna grla), godišnje se u svijetu proizvede najviše sirovih koža goveda (oko 370 milijuna komada) i to najviše u Aziji (oko 150 milijuna komada) (FAO, 2016.). Prema podacima dostupnim u bazi Svjetske poljoprivredne organizacije (FAO, 2016.) godišnja proizvodnja sirovih goveđih koža u Europi iznosi oko 43 milijuna komada. Od ovaca, kao druge najbrojnije populacije domaćih vrsta životinja (oko 1 163 milijuna grla), godišnje se proizvede oko 550 milijuna komada sirovih koža, također najviše u Aziji (oko 265 milijuna komada). U Europi godišnja proizvodnja sirovih koža ovaca iznosi oko 77 000 komada. Populacija koza u svijetu broji oko milijardu grla, a godišnje se proizvede oko 480 milijuna komada sirovih kozjih koža, najviše u Aziji (oko 335 milijuna komada), dok se u Europi godišnje proizvede oko 12 milijuna komada (FAO, 2016.). S obzirom na prikazanu važnost sirove kože, cilj ovoga rada je prikazati gradnju, svojstva i načine obrade sirove kože.

### Grada kože domaćih životinja

Koža kao organ prekriva površinu tijela životinje skupa s mukoznim membranama na usnim, analnim i urogenitalnim otvorima, ulazu u nosnu šupljinu te očnim kopcima. Sirova koža čini 4-12 % tjelesne mase domaćih životinja (primjerice, 6 % u goveda i svinja; oko 12 % u

ovaca) (Ockerman i Basu, 2014.). Debljina kože razlikuje se između pojedinih vrsta životinja, ali i između jedinki unutar vrste te je obično deblja na najizloženijim mjestima (npr. leđa) i tanja na manje izloženim dijelovima tijela (npr. prepone). Koža je na pojedinim dijelovima tijela životinja čvrsto povezana s tkivima ispod nje, dok je na drugim ta veza labavija i omogućuje pomicanje kože. Na tim mjestima labavije povezanosti vrši se potkožno apliciranje lijekova ili tekućina prilikom re-hidratacije u životinja (Ockerman i Basu, 2014.). Koža se sastoji od pousmine ili pokožice i usmine. Pousmina ili pokožica je površinski sloj kože koji sadrže stanice pločastog epitela i uglavnom se sastoji od nekoliko histoloških slojeva (bazalni, trnasti, zrnati, svijetli i rožnati sloj) te čini 1-2 % ukupne debljine kože (Ockerman i Basu, 2014.). Stanice bazalnog sloja su prokrvljene te prolaze kontinuiran proces diobe, pri tome „guraju“ slojeve iznad sebe prema površini. Na taj način slojevi pousmine bliže površini ostaju bez hranjiva i stanice rožnatog sloja odumiru, ljušte se i zamjenjuju novim stanicama (keratinizacija) (Ockerman i Basu, 2014.). Boju kože određuju pigmentirane granule koje nastaju u citoplazmi stanica melanocita, smještenih u bazalnom sloju. Ove stanice proizvode melanin, pigment smeđe, žućkasto-smeđe ili crne boje (Ockerman i Basu, 2014.). Melanin nastao u melanocitima se prenosi na okolne stanice pousmine, kao i dlaku. Boja kože ovisi o količini nastalog melanina u melanocitima, a ne o broju melanocita. Pousmina ili pokožica se uglavnom skida skupa sa keratinskim tvorbama kože odnosno pri skidanju vune ili vlakna (Ockerman i Basu, 2014.). Za razliku od pousmine, usmina sadrži kapilare, krvne žile i živce. Usmina čini oko 85 % ukupne debljine kože te je primarno građena od kolagena. Upravo ovaj sloj kože životinja se tretira i obrađuje te se koristi kao sirovina (obrađena koža) u različite namjene. Kratki izdanci živaca iz usmine mogu se pružati do prvog sloja pousmine odnosno sloja *stratum basale*. Gotovo na cijeloj površini tijela, sloj labavog vezivnog tkiva odvaja usminu od tkiva ispod nje. Ovo tkivo naziva se superficijalna fascija (*subkutis* ili *hipodermis*) te omogućuje pomicanje kože, a da pri tome ne dolazi do njenog pucanja ili oštećenja tijekom života životinje. Hipodermis čini oko 14 % debljine kože te budući da sadrži dijelove masnog i mišićnog tkiva, odstranjuje se sa sirovih koža prilikom obrade. U hipodermisu se nalaze različite količine masnog tkiva, ovisno o vrsti i položaju na tijelu. Karakterističan deblji sloj masnog tkiva u hipodermisu je izražen osobito u svinja (Ockerman i Basu, 2014.). U koži se također nalaze i različite žlijezde. Lojne žlijezde pripadaju skupini holokrinih žlijezda čiji se sekret (sebum) proizvodi u cijeloj stanici koja se potom razgrađuje i sama postaje dio sekreta. Većina lojnih žlijezda izlučuje svoj sekret u folikul dlake, dok one koje svoj sekret izlučuju na površinu kože se nalaze u ušnom kanalu, oko anusa, muških i ženskih spolnih organa te očnih kapka. Pojedine vrste domaćih životinja imaju specijalizirane lojne žlijezde koje služe za proizvodnju specifičnog sekreta. Tako ovce imaju kožne žlijezde koje su okružene lojnim žlijezdama, i to na području glave i interdigitalnu žlijezdu koja se nalazi na sredini iznad sva četiri papka te inguinalnu žlijezdu koja se nalazi na bazi vimena, ili mošnji u ovnova. Koze imaju lojne žlijezde koje se nalaze kaudalno na bazi rogova ili na mjestu gdje bi bio rog u bezrogih grla. Intenzivnije lučenje ovih žlijezda je tijekom sezone mrkanja, a osobito je izraženo u jarčeva. Svinje imaju karpalne lojne žlijezde smještene mediokarpalno i prisutne su u krmača i u nerastova (Ockerman i Basu, 2014.). Koža domaćih životinja se sastoji od 60-70 % vode, oko 30 % proteina (kolagen čini 60-70 % udjela u suhoj tvari), 0,2-2 % masti i oko 0,3 % pepela (Naffa i sur., 2019.). Najmanji udio kolagena utvrđen je u koži ovaca (oko 36 %), u koži koza je oko 59 % kolagena, dok je u koži goveda utvrđeno oko 70 % kolagena. Kolagen izgrađuje 20 aminokiselina koje se nalaze i u sastavu drugih proteina. Među aminokiselinama najzastupljenije su glicin, prolin i alanin, dok su dvije aminokiseline karakteristične isključivo za kolagen - hidroksiprolin i hidroksilizin (Naffa i sur., 2019.). Kolagen se sastoji od tri zavijena polipeptidna lanca koji oblikuju vlakanca dužine do 67 nm i promjera 20-500 nm. Vlakanca se potom udružuju u vlakna različitog promjera u



mikrometrima (Naffa i sur., 2019.). Osnovna fizikalna svojstva sirovih koža (čvrstoća i debljina), ovise o njenoj mikrostrukturi koja je odraz udjela kolagena. Tako kozju kožu karakterizira mala debljina, ali velika čvrstoća; ovčja koža je male čvrstoće i srednje debljine, dok je goveđa koža izrazito čvrsta i debela. Ukupna debljina goveđe kože iznosi oko 6 mm pri čemu usmina čini oko 81 % ukupne debljine, kozje kože oko 1,8 mm sa udjelom usmine od 67 %, a debljina ovčje kože od prosječno 2,4 mm sa 45 % udjela usmine (Naffa i sur., 2019.).

### Svojstva kože domaćih životinja

Sirova koža je nusproizvod koji nastaje primarno od životinja koje se koriste za proizvodnju mlijeka, mesa i vune, dok u zemljama u razvoju i od životinja koje se koriste kao radne životinje. Veličina, masa i kvaliteta sirovih koža ovisi o tehnologiji uzgoja, hranidbi (kvaliteti krmiva), pasminskim razlikama (unutar pojedine vrste domaćih životinja), uvjetima i postupcima u prijevozu živih životinja, postupcima tijekom klanja i obrade trupa (Scanes, 2018.). Primjena suvremenih metoda i tehnologija u uzgoju domaćih životinja osigurana visoku kvalitetu sirovih koža pogodnih za daljnju obradu. Hranidba kvalitetnom voluminoznom krmom s visokim udjelima koncentrata djeluje pozitivno na sastav i strukturu kože. Pothranjenost i deficitarna hranidba rezultiraju kožom lošije kvalitete (tzv. „papirnata“ koža osobito česta u područjima aridne i semiaridne klime). Naime, u većini zemalja Azije i Afrike primjenjuju se zastarjele tehnologije uzgoja životinja, ograničena je dostupnost kvalitetne krme te kože proizvedene u ovim sustavima su uglavnom manje i lakše, neujednačene veličine i debljine, često sa ožiljcima od ozljeda i/ili nametnika. Također, u ovim zemljama lošija kvaliteta koža rezultat je klanja u nekontroliranim uvjetima te lošijeg postupanja tijekom prijevoza i obrade (Jayathilakan i sur., 2012.). U Sjevernoj Americi, Oceaniji i dijelovima Južne Amerike, goveda i ovce se uzgajaju na kvalitetnim pašnjacima i primjenjuju se suvremeni tehnološki postupci te se klanje obavlja u kontroliranim uvjetima. Kao rezultat, dobiju se sirove kože visoke i uniformirane kvalitete. U Europi prevladavaju manje farme te je pasminska struktura raznolikija, što rezultira sirovim kožama koje su manje uniformne u smislu veličine i mase. Hranidba kvalitetnim krmivima i primjena suvremenih tehnoloških postupaka ipak osigurana zadovoljavajuću kvalitetu u pogledu debljine i čvrstoće.

### Korištenje i obrada kože domaćih životinja

Čovjek se od svojih početaka koristio kožom životinja kako bi si osigurao odjeću, pokrivala, sklonište i povećao udobnost svakodnevnog života. Razvojem tehnologija i strojeva te usavršavanjem obrade kože, ona je postala cijenjena sirovina u izradi luksuznih odjevnih predmeta, namještaja te opreme u automobilskoj industriji. Čvršća koža se koristi u izradi obuće i namještaja, dok se mekša koža koristi u izradi odjevnih predmeta. U pravilu, čvršća koža se dobije od goveda i koza, dok je ovčja, osobito janjeća koža mekša i nježnija. Pored ostalog, koža domaćih životinja koristi se i za proizvodnju želatine za prehrambenu industriju, pri čemu je Pravilnikom o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN 99/2007.) definirano da se u tu svrhu smiju upotrebljavati kosti, koža preživača iz uzgoja, svinjska koža, koža peradi, tetive, koža slobodno živuće divljači te riblja koža i kosti. Također, česta je upotreba kože domaćih životinja u proizvodnji tzv. „žvakalica za pse“ koje su prema navedenom Pravilniku (NN 99/2007.) definirane kao neštavljeni proizvodi od kože namijenjeni kućnim ljubimcima za žvakanje, dobiveni od koža kopitara i papkara ili drugog materijala životinjskog podrijetla. Proces obrade sirovih koža sastoji se od nekoliko koraka i uključuje: pravilno klanje i skidanje kože s trupa, odstranjivanje dlake, ostataka mesa i masnog tkiva te primjenu kemijsko-mehaničkih postupaka koji koži daju dugotrajnosti i otpornost (Scanes, 2018.).

Skidanje kože s trupa goveda, ovaca i koza provodi se na dva načina: a) korištenjem noževa ili b) povlačenja (Ockerman i Basu, 2014.). U većini suvremenih klaonica kože se s trupova preživača skidanju povlačenjem jer zahtjeva manje preciznosti, kože se manje oštećuju, manji je utrošak radne snage, manje kontaminacije trupa i povećava se randman do 2 % jer nema zarezivanja komada mesa. Sa svinjskih trupova se za daljnju obradu koristi koža koja prilikom šurenja i skidanja dlake nije bila izložena temperaturama većim od 58°C. Za skidanje kože sa svinjskih trupova ili dijelova trupa su dizajnirani i posebni sustavi koji omogućuju i istodobno skidanje suvišne masnoće. U novije vrijeme sve više se primjenjuju i sustavi mehaničkog povlačenja kože s trupa svinja (npr. 96 % trupova svinja u Japanu se obrađuje na ovaj način) zbog uštede radne snage i vremena te povoljnog utjecaja na kvalitetu svinjskog mesa uslijed bržeg hlađenja polovica koje su otkožene (Ockerman i Basu, 2014.). Budući da su sirove kože zbog visokog udjela proteina pogodan medij za rast i razvoj bakterija i gljivica, nakon skidanja s trupa i prije prijevoza potrebno ih je konzervirati. Uobičajene metode dehidriranja sirovih koža su suho soljenje i potapanje u salamuru. Najstarija metoda tretiranja sirovih koža goveda je suho soljenje i uključuje slaganje koža jedne na drugu, mesnom stranom prema gore po kojoj se posipa sloj soli. Kao aditivi u ovom procesu se koriste i druge tvari koje doprinose uspješnijem dehidriranju, kao što su natrij-florid, naftalen u kombinaciji s 1 % bornom kiselinom, zinkov oksid, natrij-metabisulfat (Ockerman i Basu, 2014.). Dehidriranje ovako tretiranih koža uglavnom traje 20-30 dana. Potapanjem sirovih koža u salamuru konzerviranje se znatno skraćuje te, u odnosu na suho soljenje, konzerviranje u salamuri traje svega 24 h. Salamurenje se može obavljati miješanjem sirovih koža u uređaju nalik na mješalicu za cement. Kože se miješaju 6-12 h u salamuri koja sadrži 20-24 % soli od ukupne mase koža uz dodatak baktericidnog i fungicidnog sredstva. Po završetku, mokre kože se ocjeđuju vješanjem ili centrifugiranjem (Ockerman i Basu, 2014.). Metoda cirkuliranja je danas najčešća metoda konzerviranja sirovih koža, a uključuje sustav koji omogućuje cirkuliranje salamure i koža. Omjer udjela salamure i kože je 4:1 te proces traje oko 16 h. Po završetku procesa kože sadrže <40 % vlage i >85 % soli. Pored soli, za konzerviranje sirovih koža koriste se i druge tvari (kislina, aceton, eter i/ili esteri etera, sl.) (Ockerman i Basu, 2014.). Sljedeći korak obrade sirovih koža uključuje namakanje, odmaščivanje, skidanje dlaka, namakanje u lužini, ispiranje lužine i „lupanje“, sve s ciljem odstranjivanja sa sirovih koža suvišnih komponenti kao što su nečistoća, dlaka, masnoća i nestrukturani proteini kože te otvaranje kolagenskih vlakana (Ockerman i Basu, 2014.). U drugom koraku se poduzima niz postupaka obrade (štavljenja) koji uključuju tretiranje kiselinama (tzv. kiseljenje), potom slijedi primjena soli pojedinih metala npr. kroma ili biljnih štavila. U trećem koraku koriste se velike količine vode koja služi kao otapalo za boje, štavila te ulja i masti koji koži daju boju, mekoću i specifična fizikalna svojstva. Na kraju, kože prolaze proces obrade površine i mehaničkog tretiranja kako bi se dobio odgovarajući sjaj i izgled obrađene kože. Obrađena koža koja se dobije nakon obrade i štavljenja razlikuje se od sirove kože strukturom i svojstvima. Proces štavljenja uglavnom nije se mijenjao već dugi niz godina. No, u novije vrijeme javlja se potreba za korekcijama pojedinih faza kako bi se smanjio negativan utjecaj na okoliš. Naime, u procesu obrade kože koriste se brojne kemikalije te prilikom obrade 1 tone sirovih koža obrađenih salamurenjem nastaje oko 600 kg otpada i utroši se 30-35 m<sup>3</sup> vode, a rezultat je 200-300 kg obrađene kože (Wu i sur., 2017.).

## Zaključak

Kožom životinja čovjek se koristi već tisućama godina. Razlike u svojstvima kože uglavnom ovise o klimi, hranidbi i načinu obrade trupa. Kolagen je osnovna komponenta kože te osnovna fizikalna svojstva sirovih koža, kao što su čvrstoća i debljina kože, ovise o udjelu kolagena u koži. Proces obrade sirovih koža započinje smanjenjem udjela vode (<40 %),

slijedi odstranjivanje masnog i mišićnog tkiva, dlake, razdvajanje na slojeve, tretiranje kemijskim sredstvima koja stabiliziraju svojstva kože, te bojanje i mehaničko tretiranje. U novije vrijeme, u cilju smanjenja onečišćenja okoliša, unaprjeđuju se ustaljene prakse i postupci obrade i prerade kože.

## Literatura

- Food and Agriculture Organisation (2016). World statistical compendium for raw hides and skins, leather and leather footwear 1999-2015.  
 Raspoloživo: <http://www.fao.org/3/i5599e/i5599e.pdf>
- Jayathilakan K., Sultana K., Radhakrishna K., Bawa A.S. (2012). Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *Journal of Food Science and Technology*. 49: 278–293.  
 Raspoloživo: <https://dx.doi.org/10.1007%2Fs13197-011-0290-7>
- Naffa R., Maidment C., Holmes G., Norris G. (2019). Insights into the Molecular Composition of the Skins and Hides used in Leather Manufacture. *Journal of American Leather Chemists Association*. 114 (1): 29-37.  
 Raspoloživo: <https://journals.uc.edu/index.php/JALCA/issue/view/85>
- NN. (2007). Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla. [NN 99/2007]. Zagreb, Hrvatska: Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva.
- NN. (2009). Pravilnik o nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi. [NN 87/2009]. Zagreb, Hrvatska: Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva.
- Ockerman H.W., Basu L. (2014). By-products/ Hides and Skins. Objavljeno u *Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition)*, Dikeman M., Devine C. (eds.), 112-124. London, Velika Britanija: Academic Press.
- Scanes C. G. (2018). Animal Attributes Exploited by Humans (Nonfood Uses of Animals). Objavljeno u *Animals and Human Society*, Scanes C.G., Toukhsati S.R. (eds.), 13-40. London, Velika Britanija: Academic Press.
- Wu J., Zhao L., Liu X., Chen W., Gu H. (2017). Recent Progress in Cleaner Preservation of Hides and Skins. *Journal of Cleaner Production*. 148 (1): 158-173. Raspoloživo: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.01.113>

## Composition, characteristics and processing of raw animal skins and hides

### Abstract

According to legislations, raw skins and hides are all cutaneous and subcutaneous tissues. Skin and hides are used more than 30 000 years to make shoes and clothes and till nowadays are valuable raw material used to produce luxurious and everyday objects used for different purposes. The aim of this work is to describe composition, characteristics and processing of raw animal skins and hides. Size, weight and quality of raw hides depends on production technology, forage quality, breed, conditions during transport, procedures during slaughter and carcass dressing. Raw hide processing includes slaughtering and removing hide from carcass, dehairing and fleshing, and different chemical-mechanical procedures.

**Key words:** animal by-products, raw skin and hide, physical characteristics

## Nusproizvodi životinjskog podrijetla kao hrana za kućne ljubimce

Nikolina Kelava Ugarković<sup>1</sup>, Josipa Hadrović<sup>2</sup>, Ivan Vnučec<sup>1</sup>, Miljenko Konjačić<sup>1</sup>, Zvonimir Prpić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (mkonjacic@agr.hr)

<sup>2</sup>Studentica diplomskog studija Proizvodnja i prerada mesa, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Nusproizvodi životinjskog podrijetla nastaju nakon klanja i obrade trupova domaćih životinja u klaonicama i prosječni udio u živoj masi goveda iznosi oko 45 %, oko 50 % za ovce i koze, 40 % za svinje i 30 % za brojlere. Nusproizvodi se dijele na jestive i nejestive odnosno one koji nisu prikladni za prehranu ljudi. Većina jestivih nusproizvoda ima visoki udio proteina, poželjan aminokiselinski sastav te esencijalne minerale i vitamine. Hranjiva vrijednost nusproizvoda životinjskog podrijetla čini ih pogodnom sirovinom u industriji hrane za pse i mačke. Cilj ovog rada je opisati svojstva nusproizvoda i njihovo korištenje u proizvodnji hrane za pse i mačke kao dominantnih kućnih ljubimaca.

**Ključne riječi:** psi, mačke, hrana, jestivi i nejestivi nusproizvodi

### Uvod

Tijekom klanja i obrade trupa u klaonicama diljem Svijeta godišnje nastaje oko 100 milijuna tona biološkog materijala odnosno nusproizvoda životinjskog podrijetla (Mora i sur., 2019.). Kako ne bi došlo do ugroze zdravlja ljudi i onečišćenja okoliša, potrebno je isti sakupljati, prevoziti, skladištiti, s njim postupati, prerađivati, uklanjati, stavljati na tržište, izvoziti i provoziti u skladu s važećim zakonskim propisima (Uredba (EZ) 1069/2009.).

Nusproizvodi životinjskog podrijetla poznati su i pod nazivom "peta četvrt". Dobit od "peta četvrti" pokriva trošak klanja i klaonicama je važna za održavanje pozitivnih financijskih rezultata (Leoci, 2014.). Udio nusproizvoda u živoj masi ovisi o vrsti domaćih životinja i prosječno iznosi: oko 45 % za goveda, oko 50 % ovce i koze, 40 % za svinje i 30 % za tovne piliće. No, na udio nusproizvoda utječe i dob, spol, pasmina, uzgojno područje, hranidba i slično (Leoci, 2014.). Jestivi nusproizvodi u Republici Hrvatskoj definirani su Pravilnikom o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN 99/2007.) kao svježe meso osim mesa trupa, uključujući unutarnje organe i krv. Unutarnji organi su organi prsne, trbušne i zdjelične šupljine, te dušnik i jednjak, a kod ptica voljka (NN 99/2007.). Ovi nusproizvodi vrijedan su izvor hranjiva kao što su proteini, esencijalne masne kiseline, minerali i vitamini (Ockerman i Hansen, 1988.; Honikel, 2011.; Nollet i Toldra, 2011.).

Nusproizvodi životinjskog podrijetla koji nisu prikladni za prehranu ljudi u Republici Hrvatskoj definirani su kao cijeli trupovi i lešine životinja ili dijelovi životinja, ili proizvodi životinjskog podrijetla koji pripadaju jednoj od tri kategorije i nisu namijenjeni prehrani ljudi, uključujući jajne stanice, embrije i sjeme (NN 87/2009.). Primjeri nusproizvoda životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi su kože, perje, papci i rogovi ili oni jestivi nusproizvodi koji su nakon veterinarskog pregleda trupa životinje ocjenjeni kao neprikladni za prehranu ljudi. U nejestive nusproizvode ubrajaju se i svi dijelovi životinja koje su uginule na farmama ili su usmrćene radi spečavanja širenja zaraznih bolesti (Leoci, 2014.).

Nusproizvodi životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi dijele se na: materijal Kategorije 1, materijal Kategorije 2 i materijal Kategorije 3 (NN 87/2009.). Materijal Kategorije 1, definiran je prema članku 8. Uredbe (EZ) br. 1069/2009. kao materijal najvišeg rizika. To je materijal koji predstavlja opasnost od prijenosa transmisivnih spongiformnih encefalopatija (TSE) sa lešina goveda, ovaca i koza koje ga sadrže. Zatim, u Kategoriju 1 ubrajaju se tonzile, zadnja četiri metra tankog crijeva, slijepo crijevo i mezenterij životinja svih dobnih kategorija, lešine kućnih ljubimaca, lešine životinja iz zooloških vrtova, lešine divljih životinja kada se sumnja da su nositelji zoonoza ili zaraznih bolesti i nusproizvodi dobiveni od životinja koje su bile predmet nezakonite uporabe tvari (npr. hormona). Materijal Kategorije 2 koji je definiran u članku 9. Uredbe (EZ) br. 1069/2009. također je visokorizičan. U ovu skupinu se ubrajaju lešine uginulih životinja iz uzgoja, uključujući životinje usmrćene radi kontrole bolesti, fetuse, uginule zametke u jajetu, jajne stanice, zametke i sjeme koje nije predodređeno za rasplod, stajski gnoj i sadržaj probavnog trakta. Materijal Kategorije 2 su i proizvodi životinjskog podrijetla odbijeni pri uvozu iz trećih zemalja, ali i proizvodi koji sadrže rezidue lijekova. Materijal Kategorije 3 definiran u članku 10. Uredbe (EZ) br. 1069/2009. kao materijal niskog rizika. U taj materijal ubrajaju se dijelovi koji potječu od životinja zaklanih u klaonici koje su na temelju *ante mortem* pregleda ocijenjene prikladnima za klanje za prehranu ljudi, ali nisu namijenjeni prehrani ljudi iz komercijalnih razloga ili nisu primjereni za prehranu ljudi (koža, rogovi, papci, čekinje, perje i slično). U ovu kategoriju ubraja se i hrana životinjskog podrijetla, hrana za kućne ljubimce i hrana za životinje (ako sadrži proizvode životinjskog porijekla) isteklog roka trajanja, kao i krv, placenta, vuna, perje, dlaka, rogove, obreske kopita i sirovo mlijeko od živih, zdravih, životinja, ali i akvatične životinje i dijelovi tih životinja.

U razdoblju od 2013. do 2016. godine u Europskoj uniji je proizvedeno oko 17,5 milijuna tona nusproizvoda životinjskog podrijetla koji nisu prikladni za prehranu ljudi, pri čemu 2/3 čini materijal Kategorije 3, a ostatak je materijal Kategorije 1 i 2 (Dobbelaere, 2017.). Obzirom na sastav i svojstva, nusproizvodi životinjskog podrijetla poželjna su i korisna sirovina za proizvodnju hrane za pse i mačke (Šerman i Mas, 2010.). Prerada i korištenje jestivih i nejestivih nusproizvoda životinjskog podrijetla kao hrane za pse i mačke donosi dodatnu dobit, ali i rješava potencijalni problem njihovog neodgovarajućeg zbrinjavanja. Stoga je cilj ovog rada opisati sastav i svojstva nusproizvoda životinjskog podrijetla i njihovo korištenje kao sirovine u industriji hrane za kućne ljubimce odnosno pse i mačke.

#### Sastav i svojstva nusproizvoda životinjskog podrijetla

Jestivi nusproizvodi poznate su hranjive vrijednosti i mogu biti konkurenti mesu kao izvor pojedinih hranjiva. Prije svega, većina jestivih nusproizvoda sadrži poželjne količine proteina. Jestivi nusproizvodi kao krv (svinja, goveda), srce, jezik, bubrezi, pluća, svinjski želudac i gušterača sadrže od 16,5 do 18 g proteina/100 g. Izuzetak je jetra koja sadrži i veće količine proteina u odnosu na druge nusproizvode (19-22 g/100 g). Također, veće količine proteina u odnosu na prosječne vrijednosti nalaze se u svinjskim ušima i nogicama (22-22,5 g/100 g). Mozak svih vrsta i kategorija domaćih životinja, kao i tanko crijevo, predželudci i želudci sadrže niže količine proteina, oko 10-15 g/100 g (Nollet i Toldra, 2011.). Jestivi nusproizvodi životinjskog podrijetla izvor su esencijalnih masnih kiselina kao što su valin, leucin, izoleucin, fenilalanin, triptofan, treonin, metionin, lizin i histidin. Proteini i aminokiseline u većini jestivih nusproizvoda ujedno su i visoke probavljivosti, i do 100 %. Izuzetak su nusproizvodi koji sadrže veće količine vezivnog tkiva bogatog kolagenom te aminokiselinama hidroksiprolinom, prolinom, hidroksisilanom i glicinom, a siromašnih tirozinom i triptofanom. Ovaka sastav je karakterističan za predželudce i želudce, pluća, tanko crijevo, jezik, uši ili nogice (Honikel, 2011.).

Jestivi nusproizvodi životinjskog podrijetla s niskim udjelom masti su krv, jetra, srce, bubrezi, slezena, timus i pluća. Udio masti u ovim nusproizvodima je manji od 5 % u ukupnoj suhoj tvari. Visoke udjele masti sadrže predželudci, i do 9,5 g/100 g, tanko crijevo (23,5 g/100 g), jezik (11,5-13 g/100 g), gušterača (13-18 g/100 g), mozak (8-9 g/100 g), uši i nogice (15 i 19 g/100 g) te koža (32,5 g/100 g). Najveći sadržaj masti naravno nalazi se u masti i loju (94-99 g/100 g) (Honikel, 2011.).

U jestivim nusproizvodima udio zasićenih masnih kiselina dominantan je u odnosu na druge skupine masnih kiselina. Jestivi nusproizvodi sadrže najmanje višestruko nezasićenih masnih kiselina, no zbroj udjela jednostruko i višestruko nezasićenih često je gotovo jednak sadržaju zasićenih masnih kiselina. Obzirom na vrstu domaćih životinja, lipidi monogastričnih životinja u odnosu na lipide preživača imaju jednostavniji profil masnih kiselina sa većim postotkom višestruko nezasićenih masnih kiselina, a nižim udjelom zasićenih i trans masti (Prates i sur., 2011.). Udio glikogena u jestivim nusproizvodima je većinom ispod 1 %, izuzev u jetri svih vrsta domaćih životinja gdje može iznositi i do 15 %. Razlog tome je što u jetri ne dolazi do razgradnje glikogena *post mortem* (Nollet i Toldrá, 2011.). Udio kolesterola u mesu kreće se u rasponu od 50 do 70 mg/100 g, dok su u svim nusproizvodima te količine veće. Najmanji udio imaju uši, noge, koža, jezik, oko 75-90 mg/100 g, dok je najveći udio kolesterola u mozgu i iznosi više od 1000 mg/100 g (Honikel, 2011.). Jestivi nusproizvodi životinjskog podrijetla sadrže najveće količine kalija (240 g/100 g), potom slijede fosfor (220 g/100 g) i natrij (95 g/100 g). Slijede magnezij (16 g/100 g), kalcij (12 g/100 g), željezo (9 g/100 g) i cink (3 g/100 g), dok kao mikroelementi u nusproizvodima se nalaze mangan (131 µg /100 g), selen (35 µg/100 g), jod (7 µg/100 g) i bakar (0,95 µg/100 g). Količina vitamina u jestivim nusproizvodima životinjskog podrijetla varira od organa do organa te je jetra poznata po većim količinama vitamina A i vitamina B9. Prosječno u nusproizvodima se nalazi veće količine vitamina skupine B (B3, B5, B2, B6, B7, B1 i B12) te C vitamina. Također, jestivi nusproizvodi mogu biti koristan izvor vitamina D, E i K (Nollet i Toldra, 2011.).

Od nusproizvoda životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi, materijal Kategorije 3 se često koristi u industriji hrane za kućne ljubimce. Crijeva, burag preživača bez sadržaja i želudac nepreživača, koža svinja, masno tkivo, tetive i hrskavice sastavi su dio hrane za pse i mačke, osobito grickalica i poslastica (Leoci, 2014.).

Brojno stanje pasa i mačaka i trendovi u industriji hrane za pse i mačke

U Svijetu je 2018. godine bilo registrirano preko 470 milijuna pasa kao kućnih ljubimaca što ih čini najbrojnijom vrstom životinja među ljubimcima. Druga najbrojnija vrsta kućnih ljubimaca su mačke koje broje preko 370 milijuna jedinki u svijetu (Bedford, 2020.). U Europskoj Uniji 2019. godine mačke su činile najbrojniju populaciju kućnih ljubimaca (oko 106 milijuna), dok se psi nalaze na drugom mjestu sa oko 87,5 milijuna. Njemačka sa oko 10 milijuna pasa je bila vodeća zemlja u Uniji po broju pasa kao kućnih ljubimaca, a slijedile su Velika Britanija, Poljska i Francuska (Wunsch, 2020.). Tijekom 2019. godine prihod ostvaren u Uniji od prodaje hrane za pse i mačke iznosio je 21 milijun eura, a prodana količina hrane za pse i mačke iznosila je 8,5 milijuna tona (Wunsch, 2020.). Prosječan rast industrije hrane za pse i mačke 2019. godine u Uniji iznosio je 2,6 % te tijekom zadnjih osam godina pokazuje stalan porast i pozitivan trend. Pozitivan trend u industriji hrane za pse i mačke pokazuje i postotak novih proizvoda stavljenih na tržište u ovom sektoru koji je u Njemačkoj 2019. godine iznosio 19,2 % i u Velikoj Britaniji 17 % (Wunsch, 2020.).

## Nusproizvodi životinjskog podrijetla kao hrane za kućne ljubimce

Obzirom da su pse i mačke mesojedi, protein animalnog podrijetla prisutan u hrani koja sadrži nusproizvode može podmiriti potrebe pasa i mačka za proteinom kao i potrebe za esencijalnim aminokiselinama, mineralima i vitaminima. Nusproizvodi se mogu koristiti nakon termičke obrade samostalno ili u kombinaciji za drugim sirovinama, često biljnog podrijetla. Hranidbene potrebe pasa i mačaka se razlikuju i mijenjaju ovisno dobi, spolu, tjelesnoj masi, gravidnosti te aktivnosti (Šerman i Mas, 2010.). Između mačaka i pasa postoje i fiziološke razlike u probavnom sustavu zbog kojih je hranidbu potrebno prilagoditi obzirom na vrstu i porijeklo hranjiva. Mačke su obligatorni mesojedi te zbog kraćeg probavnog trakta i drugačije aktivnosti probavnih jetrenih enzima trebaju hranu koja je animalnog podrijetla, dok psi imaju mogućnost probave i biljne hrane. Mačke imaju veće potrebe za proteinima nego psi te su esencijalne i limitirajuće aminokiseline u hranidbi mačaka metionin i cistein. Specifičnost mačaka je i potreba za esencijalnom arahidonskom kiselinom koju ne mogu sintetizirati u odnosu na pse. Isti slučaj je i sa vitaminom A i niacinom (B3) (Pet food institute, 2017.). Različite kategorije pasa i mačka imaju različite nutritivne potrebe te ovisno o tim potrebama varira i udio nusproizvoda u hrani za pse i mačke. Pored toga, udio nusproizvoda je varijabilan i ovisno o vrsti hrane odnosno da li je to suha hrana, dehidrirana, konzervirana, poluvlažna ili sirova (Ockerman i Hansen, 1988.). Suha hrana za pse i mačke čini oko četiri petine sve proizvedene hrane za pse i mačke te je postala osobito popularna razvojem tehnologija ekstrudiranja. Rezultat je lagana, pahuljasta i vrlo ukusna suha hrana u formi peleta različitih veličina i oblika (Ockerman i Hansen, 1988.). Takva suha hrana za pse i mačke pored mesa pojedinih vrsta domaćih životinja uobičajeno sadrži nusproizvode životinjskog podrijetla u udjelima od 10 do 20 % ovisno o proizvođaču, dok ostatak čine sastojci uglavnom biljnog podrijetla. Veći udjeli nusproizvoda životinjskog podrijetla (do 50 %) nalaze se u konzerviranoj i poluvlažnoj hrani za pse i mačke. Među deklariranim nusproizvodima najčešće se navode srce, jetra, dok često drugi jestivi nusproizvodi nisu pojedinačno deklarirani (Ockerman i Hansen, 1988.). Uobičajena komponenta ovih tipova hrane su i nusproizvodi kao burag, animalna mast, mljevene kosti, hrskavice i vezivno tkivo koji pored hranjive vrijednosti doprinose i konzistenciji same hrane. Posebnu kategoriju čine tzv. poslastice i grickalice i najčešće se proizvode dehidracijom nejestivih nusproizvoda kao što su koža s glave goveda i svinja, mljevenjem kostiju i hrskavica te njihovim oblikovanjem u različite i veličine grickalice (Ockerman i Hansen, 1988.).

### Zaključak

U svijetu je prisutan trend porasta populacije kućnih ljubimaca, osobito pasa i mačaka koje se dvije najbrojnije vrste. Taj porast prati i porast proizvodnje hrane za pse i mačke čijoj se kvaliteti pridaje sve više pažnje. Dostupnost i iskoristivog hranjiva u hrani za pse i mačke ovisi o porijeklu i kvaliteti sirovine. Nusproizvodi životinjskog podrijetla nastali tijekom klanja i obrade trupova sadrže visoke udjele proteina, esencijalnih aminokiselina, minerala i vitamina. Ujedno, nastaju u znatnim količinama te čine 30-50 % žive mase domaćih životinja. Time nusproizvodi životinjskog podrijetla predstavljaju poželjnu i vrijednu sirovinu u industriji hrane za pse i mačke kao dominantnih kućnih ljubimaca.

### Literatura

- Bedford E. (2020). Sales of pet food worldwide 2010-2018. Statista 2020. Raspoloživo: <https://www.statista.com/statistics/253953/global-pet-food-sales/>
- Dobbealere D. (2017). Statistical Overview of the Animal By-Products Industry in the EU in 2016. European fat processors and renderers association, Herskowitz J. (ed.). Hamburg, Germany.

- Honikel K. O. (2011). 7. Composition and Calories. In Handbook of Analysis of Edible Animal By-Products, Nollet L.M.L., Toldra F. (eds.), 105-122. Boca Raton, Florida, SAD: CRC Press. Taylor and Francis Group, LLC.
- Leoci R. (2014). Animal by-products (ABPs): Origins, Uses, and European regulations. Ladispoli (Roma), Italy: Press Up S.r.l., pp. 192.
- Mora L., Toldrá-Reig F., Reig M., Toldrá F. (2019). Bioactive Compounds from Animal Meat Byproducts. Objavljeno u Byproducts from Agriculture and Fisheries: Adding Value for Food, Feed, Pharma and Fuels, Simpson B.K., Aryee A.N., Toldrá F. (eds.), 335-346. Hoboken, SAD: Wiley-Blackwell.
- NN. (2007). Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla. [NN 99/2007]. Zagreb, Hrvatska: Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva.
- NN. (2009). Pravilnik o nusproizvodima životinjskog podrijetla koji nisu za prehranu ljudi. [NN 87/2009]. Zagreb, Hrvatska: Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva.
- Nollet L.M.L., Toldra F. (2011). 1. Introduction. Offal Meat: Definitions, regions, cultures and generalities. Objavljeno u Handbook of Analysis of Edible Animal By-Products, Nollet L.M.L., Toldra F. (eds.), 3-13. Boca Raton, Florida, SAD: CRC Press. Taylor and Francis Group, LLC.
- Ockerman H. W., Hansen C. L. (2000). Animal By-Product Processing and Utilization. Lancaster, Pennsylvania, SAD: Technomic Pub. Co.
- Pet Food Institute (2017). Cats vs. Dogs: 5 Differences in Nutritional Needs. Raspoloživo: <https://www.petfoodinstitute.org/the-whole-bowl/cats-vs-dogs-5-differences-nutritional-needs/>
- Prates J.A.M., Alfaia C.M., Alves S.P., Bessa R.J.B. (2011). Fatty Acids. Objavljeno u Handbook of Analysis of Edible Animal By-Products. Nollet L.M.L., Toldra F. (eds.), 137-161. Boca Raton, Florida, SAD: CRC Press. Taylor and Francis Group, LLC
- Šerman V., Mas N. (2010). Hranidba pasa i mačaka. Krmiva. 49 (5): 259-292.
- Uredba (EZ) 1069/2009. Uredba o utvrđivanju zdravstvenih pravila za nusproizvode životinjskog podrijetla i od njih dobivene proizvode koji nisu namijenjeni prehrani ljudi. Službeni list Europske unije. Raspoloživo: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32009R1069>.
- Wunsch N.G. (2020). Number of cats and dogs in Europe 2010-2019. Statista 2020. Raspoloživo: <https://www.statista.com/statistics/516041/cat-population-europe-europe/>.

## Animal by-products as component of commercially produced pet food

### Abstract

Animal by-products are produced after slaughter and meat processing and average proportion in cattle live weight is about 45% for cattle, 50% for sheep and goat, 40% for swine and 30% for broilers. They are categorised as edible and non-edible i.e. not suited for human consumption. Majority of edible by-products contains high protein content and favourable amino acid, mineral and vitamin content. Nutritional value of animal by-products makes them suitable for pet food industry. The aim of this paper is to describe characteristics of animal by-products and use in pet food production.

**Key words:** dogs, cats, pet food, animal by-products



## Fatty acid profile of cheese made of Alpine goat milk

Željka Klir Šalavardić<sup>1</sup>, Josip Novoselec<sup>1</sup>, Mario Ronta<sup>1</sup>, Suzana Čavar<sup>2</sup>, Zvonko Antunović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, J. J. Strossmayer University Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Croatia (zklir@fazos.hr)*

<sup>2</sup>*Institute of Public Health of the Osijek-Baranja County, Drinska 8, 31000 Osijek, Croatia*

### Abstract

The aim of the present study was to determine fatty acid profile of cheese from Alpine goats, manufactured traditionally on the family farm. Bulk milk was collected from goats, during morning milking, from which 12 (350 g) semi-hard cheeses were manufactured and maintained for 24 hours. The highest value was determined in oleic acid (26.96%) proportion, following by palmitic (23.17%) and stearic acid (16.33%). Proportion of linoleic acid (LA) was 3.37%, and  $\alpha$ -linolenic acid (ALA) 0.56%. The goat cheese is comprised 15.06% of short-chain fatty acids (SCFA), primarily C6:0, C8:0 and C10:0. Thus, semi-hard goat cheese from Alpine goat milk is characterized by fatty acids beneficial for human health, like SCFA, oleic acid, LA and ALA.

**Key words:** fatty acids, chemical composition, semi-hard cheese, Alpine goats

### Introduction

Goat milk is mainly processed into cheese, while the world production of goat cheese is 523 040 t according to the last measurements (FAO, 2020). Over 90% of the cheese produced in European Union (EU) was produced from pure cows' milk, while 2% of cheese comes from goats' milk (Eurostat, 2020), which production is 176 114 t in the EU (FAO, 2020). Production of high quality goat cheese is associated with France, Italy and Spain, while in most countries goat milk is consumed more locally (Miller and Lu, 2019). A number of nutrients which pass from milk into cheese and whey are particularly important in the production of traditional cheeses where special attention is paid to the exploitation of fat and protein (Popović-Vranješ et al., 2017). The fat composition of goat milk determines its nutritional quality, cause fatty acids are involved in the production and quality of dairy products directly affecting the taste of cheese (Delacroix-Buchet and Lamberet, 2000). In addition to taste, milk fat is an important factor of cheese softness and meltability (Popović-Vranješ et al., 2017). Fat supplementation with beneficial oils in the diet of dairy goats promoted a decrease in the proportion of saturated fatty acids (SFA), like lauric (C12:0), myristic (C14:0) and palmitic (C16:0), and an increase in the proportion of polyunsaturated (PUFA) and long-chain (LCFA) fatty acids. For instance, the use of sesame oil caused an increase in oleic (OA, C18:1 *c*9), linoleic (LA, C18:2 *n*-6) and conjugated linoleic acid (CLA, C18:2 *c*9, *t*11) in goat cheese, indicating that diet of these goats can be a way of controlling the physicochemical characteristics of milk and consequently its derivatives, such as cheese (Medeiros et al., 2014). As reported by Haenlein (2004), in addition to taste, goat milk and its products are preferred for their health and nutritional benefits, including greater digestibility and lipid metabolism, compared to cows' milk. Thus, demand for dairy goat products is rising in both traditional and new markets (Miller and Lu, 2019). Therefore, the aim of the present study was to determine fatty acid profile of semi-hard goat cheese manufactured traditionally on the family farm.

## Material and methods

The research was conducted at a family farm in Osijek-Baranja County (Croatia). The milk was taken from Alpine goats ( $n = 28$ ), and was conducted when goats were approximately in the 76<sup>th</sup> day of lactation. All goats were healthy and in adequate body condition. Goats feeding was based on meadow hay *ad libitum*. In addition, each goat was supplemented with 1 kg/day of a feed mixture (163.13 g/kg of crude protein, 51.93 g/kg of crude fat, 55.63 g/kg of crude fiber and 49.67 g/kg of crude ash on the dry matter basis), individually. All goats were mechanically milked twice a day (07.00 am and 06.00 pm). Forestripping was done before milking, and none of the does presented mastitis throughout the study. Afterwards, bulk milk was collected from goats, during morning milking, from which 12 (350 g) semi-hard cheeses were manufactured traditionally on the farm, and maintained 24 hours. Firstly, the milk was cooked until the temperature reached 89 °C, when vinegar was added (100 ml/10 l of milk). The curd was drained, and salted. Then, the cheese mass was distributed into 350g perforated molds and left to rest during 24 h at room temperature, vacuum packed and stored in freeze (-20 °C) until the analyses. Composition of semi-hard cheese was determined using standard methods (AOAC, 2006). The crude protein content was estimated from the nitrogen content according to the Kjeldahl method using a Kjeldahl steam distillation for nitrogen (Behr, Germany). The crude fat content was analysed using the Universal Extractions System B-811 (Buchi, Switzerland). Crude ash concentrations were determined by incinerating the feed samples at 550°C for 4 h. Value of pH was determined with a handheld contact pH meter (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) with a piercing type electrode. Fatty acid methyl esters (FAME) were extracted from cheese and prepared according to the HRN EN ISO 12966-2. Analysis of the fatty acids were performed by using gas chromatograph with flame ionization detector (7890B Agilent GC system, Santa Clara, USA). Fatty acids were calculated as weight percentage (% of FAME) and are presented as means of duplicates. The results are presented as descriptive statistics, using MEANS procedure, by which mean, standard deviation, standard error of mean, minimal and maximal value and coefficient of variation (CV) were determined (SAS 9.4<sup>®</sup>).

## Results and discussion

Table 1 presents gross chemical composition of semi-hard cheese made of goat milk. The moisture determined in the present study was a characteristic of semi-hard cheese, which was 54.43%, as compared with research by Guizani et al. (2006) who determined 52.37% of moisture of 1 day ripened semi-hard goat cheese. Protein content in cheese was 20.91%, which is in accordance with Nieuwenhove et al. (2009) who determined 19.1% of protein and 21.4% of fat in goat cheese. Fat content of the present study was 20.37%, ash 3.16% and pH value 6.13. Alvarez et al. (2007) determined pH of 6.58 in goat cheese after 2 days of ripening. The gross composition of cheese is mainly affected by the technological cheese-making process, whereas fatty acid profile is mainly related to milk composition (Manuelian et al., 2017).

Table 1. Gross chemical composition of semi-hard goat cheese ( $n = 12$ )

Parameter	Mean	Standard deviation	Minimal value	Maximum value	SEM	CV, %
Moisture, %	54.43	0.88	53.66	56.36	0.253	1.93
Protein, %	20.91	1.14	19.75	23.45	0.330	5.47
Fat, %	20.37	0.23	19.89	20.79	0.068	1.15
Ash, %	3.16	0.20	2.76	3.43	0.059	6.46
pH	6.13	0.04	6.09	6.20	0.011	0.61

SEM-standard error of mean; CV-coefficient of variation

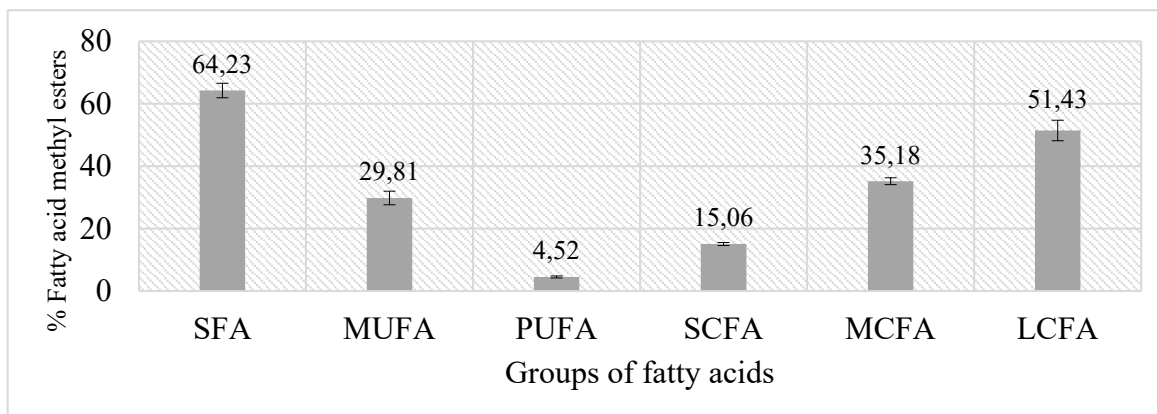
Regarding SFA content in goat cheeses, C16:0 and C18:0 were dominant, while OA was primary as unsaturated fatty acid (Table 2). Similarly determined Popović-Vranješ et al. (2017) in goat cheese. The most stable fatty acids with the slightest deviations were capric (C10:0), palmitic (C16:0) and stearic (C18:0) (CV of 3.87%, 5.15% and 4.85%, respectively). The goat cheese is comprised 15.06% of short-chain fatty acids (SCFA), which are beneficial for human health, especially caproic (C6:0), caprylic (C8:0) and capric (C10:0). These fatty acids are responsible for the particular sensory properties and better digestibility of goat milk (Bessa et al., 2016). The sum of these fatty acids in cow's milk was only 6.57% in the research by Nieuwenhove et al. (2009). Among all fatty acids in the present research, the highest value was determined in OA proportion, comprised of 26.96%, following by 23.17% of C16:0, 16.33% of C18:0 and 9.20% of C14:0. The fatty acid profile of traditional cheese made of cows' milk showed that C16:0 was predominant, followed by OA in the study by Kinik et al. (2005). Proportion of LA in the present study was 3.37% with 25.49% of CV. This variation is understandable since its proportions depend on the goats' feeding the most. Fatty acid profile of milk is related to goats' diet (Klir et al., 2012), depending on proportions of fatty acids in diets, the level of biohydrogenation and the rumen microbial activity (Mele et al., 2008). Medeiros et al. (2014) determined 2.77% of LA in cheese of goats fed control diets base on hay, ground corn and soybean meal without any PUFA rich oil supplementation, while content of  $\alpha$ -linolenic acid (ALA, C18:3 n-3) was 0.36%. According to Commission Regulation EU (2010), a claim that a food is a source of omega-3 fatty acids, may only be made where the product contains at least 0.3 g of ALA/100 g, while food is high in n-3 fatty acids where the product contains at least 0.6 g ALA/100 g. In the present research proportion of ALA was 0.56%. However, C18:2/C18:3 ratio was still high (6.22). Furthermore, semi-hard goat cheese from the present study is good source of ALA, which could be also increased by goats feeding in further research.

Table 2. Fatty acid proportion of semi-hard goat cheese (n = 12)

Fatty acids, % FAME	Mean	Standard deviation	Minimal value	Maximum value	SEM	CV, %
Butyric (C4:0)	2.45	0.24	2.01	2.91	0.069	9.55
Caproic (C6:0)	2.36	0.13	2.12	2.69	0.038	6.42
Caprylic (C8:0)	2.56	0.13	2.43	2.89	0.037	7.44
Capric (C10:0)	7.81	0.30	7.49	8.18	0.110	3.87
Lauric (C12:0)	2.85	0.91	0.00	3.35	0.263	19.03
Myristic (C14:0)	9.20	0.32	8.68	9.78	0.091	7.04
Palmitic (C16:0)	23.17	1.08	22.07	24.92	0.312	5.15
Stearic (C18:0)	16.33	0.75	15.46	18.15	0.216	4.85
Elaidic (C18:1 <i>t</i> 9)	2.59	0.28	2.32	2.97	0.081	35.29
Oleic (C18:1 <i>c</i> 9)	26.96	1.91	24.60	29.43	0.550	9.00
Linoleaidic (C18:2 <i>t</i> 9,12)	0.25	0.02	0.23	0.27	0.005	70.52
Linoleic (C18:2 n6)	3.37	0.19	3.10	3.60	0.055	25.49
$\alpha$ -Linolenic (C18:3 n3)	0.56	0.12	0.39	0.70	0.034	26.89
$\gamma$ -Linolenic (C18:3 <i>c</i> 6,9,12)	0.04	0.01	0.01	0.05	0.003	27.77
Arachidonic (C20:4)	0.17	0.03	0.11	0.20	0.011	19.17
Heneicosanoic (C21:0)	0.79	0.19	0.58	1.05	0.055	23.86
Docosahexaenoic (C22:6)	0.03	0.01	0.01	0.04	0.003	92.24
C18:2/C18:3	6.22	1.06	5.08	8.24	0.307	17.10

FAME-Fatty acid methyl esters; SEM-standard error of mean; CV-coefficient of variation

In graph 1 groups of fatty acids in goat cheese are presented. It is evident that SFA are dominant (64.23%), following by monounsaturated fatty acids (29.81%) and then PUFA (4.52%). More than 50% of these SFA are SCFA and medium-chain fatty acids (MCFA), which are responsible for particular aroma of goat cheese. The other half of fat is comprised of long-chain fatty acids (LCFA) mainly as a result of C18:0, OA and LA proportions.



Graph 1. Proportions of saturated (SFA), monounsaturated (MUFA), polyunsaturated (PUFA), short- (SCFA), medium- (MCFA) and long-chain (LCFA) fatty acids in goat cheese

## Conclusion

In semi-hard cheese from milk of Alpine goats the highest value was determined in oleic acid which proportion was 26.96%, following by 23.17% of palmitic and 16.33% of stearic acid. Goat cheese was a good source of LA and ALA proportions. Also, it is comprised of 15.06% of SCFA, which are beneficial for human health. Therefore, semi-hard goat cheese from milk of Alpine goats is characterized by fatty acids beneficial for human health, like SCFA, oleic, LA and ALA, which could be increased by goat feeding in the further research.

## Acknowledgment

The paper has been carried out within the project financed by Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, and within the research team Innovative breeding and technological processes in animal production at Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek.

## References

- Alvarez S., Fresno M., Mendez P., Castro N., Fernandez J. R., Sanz Sampelayo M. R. (2007). Alternatives for improving physical, chemical and sensory characteristics of goat cheeses: the use of arid-land forages in the diet. *Journal of Dairy Science*. 90 (5): 2181-2188.
- AOAC (2006). *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia, USA.
- Bessa M. E., Pereira Rodarte M., Otênio M. H., Stringheta P. C., de Oliveira J. M., Barbosa J.S., Oliveira Pinto M.A. (2016). Sensory perception of the fermented goat milk: potential application of the DSC method. *Food Science and Technology*. 36: 406-412.
- Commission Regulation, EU (2010). No 116/2010 of 9 February 2010 amending Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council with regard to the list of nutrition claims (Text with EEA relevance).
- Delacroix-Buchet A., Lamberet G. (2000). Sensorial properties and typicity of goat dairy products. In *Proceedings of the 7th International Conference on Goats*, Gruner L., Chabert Y. (ed.), 559–563. Tours, France: Elevage Publ.

- Eurostat (2020). Available from: <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/EDN-20190119-1>
- FAO (2020). Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QP>
- Guizani N., Al-Attabi Z., Kasapis S., Gaafar O. M. (2006). Ripening profile of semi-hard standard goat cheese made from pasteurized milk. *International Journal of Food Properties*. 9: 523–532.
- Haenlein G. F. W. (2004). Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Research*. 51: 155–163.
- HRN EN ISO 12966-2 (2017). Životinjske i biljne masti i ulja - Određivanje metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom - 2. dio: Priprava metilnih estera masnih kiselina. Državni zavod za norme. Zagreb.
- Kinik O., Gursoy O., Seckin A. K. (2005). Cholesterol content and fatty acid composition of most consumed Turkish hard and soft cheeses. *Czech Journal of Food Science*. 23 (4): 166–172.
- Klir Ž., Antunović Z., Novoselec J. (2012). Influence of goats feeding on the fatty acids content in milk. *Mljekarstvo*. 62 (4): 231–240.
- Manuelian C. L., Currò S., Penasa M., Cassandro M., De Marchi M. (2017). Characterization of major and trace minerals, fatty acid composition, and cholesterol content of Protected Designation of Origin cheeses. *Journal of Dairy Science*. 100: 3384–3395.
- Medeiros E., Queiroga R., Oliveira M., Medeiros A., Sabedot M., Bomfim M., Madruga M. (2014). Fatty acid profile of cheese from dairy goats fed a diet enriched with castor, sesame and faveleira vegetable oils. *Molecules*. 19 (1): 992–1003.
- Mele M., Buccioni A., Serra A., Antongiovanni M., Secchiari P. (2008). Lipids of goat's milk: Origin, composition and main sources of variation. In *Dairy goats feeding and nutrition*, Cannas A., Pulina G. (ed.), 47–65. Wallingford, UK: CAB International.
- Miller B. A., Lu C. D. (2019). Current status of global dairy goat production: an overview. *Asian-Australas Journal of Animal Science*. 32: 1219–1232.
- Nieuwenhove C. P., Oliszewski R., González S. N. (2009). Fatty acid composition and conjugated linoleic acid content of cow and goat cheeses from northwest Argentina. *Journal of Food Quality*. 32 (3): 303–314.
- Popović-Vranješ A., Pihler I., Paskaš S., Krstović S., Jurakić Ž., Strugar K. (2017). Production of hard goat cheese and goat whey. *Mljekarstvo*. 67 (3): 177–187.
- SAS (2013). Statistical Analysis System (Version 9.4). SAS institute, Cary, NC, USA.

## Masnokiselinski profil sira od alpskih koza

### Sažetak

Cilj ovog rada bio je utvrditi masnokiselinski profil sira od alpskih koza, koji se tradicionalno proizvodi na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu. Mlijeko je prikupljeno tijekom jutarnje mužnje, od kojeg je proizvedeno 12 (350 g) polutvrđih kozjih sireva nakon 24 h sazrijevanja. U siru je utvrđeno najviše oleinske (26,96 %), zatim, palmitinske (23,17 %) i stearinske (16,33 %) masne kiseline. Udio linolne kiseline (LA) bio je 3,37 %, a  $\alpha$ -linolenske kiseline (ALA) 0,56 %. Utvrđeno je i 15,06 % ukupnih kratkolančanih masnih kiselina (SCFA), osobito C6:0, C8:0 i C10:0. Prema tome, polutvrđi kozji sir od mlijeka alpina koza sadrži masne kiseline poput SCFA, oleinske kiseline, LA i ALA korisne za ljudsko zdravlje.

**Ključne riječi:** masne kiseline, kemijski sastav, polutvrđi sir, alpina koze

## Utjecaj dodatka ovčjeg mesa na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva tradicionalnih trajnih kobasica

Ivica Kos<sup>1</sup>, Matea Kocek<sup>2</sup>, Ivan Širić<sup>1</sup>, Miroslav Jůzl<sup>3</sup>, Radka Langová<sup>3</sup>, Dalibor Bedeković<sup>1</sup>, Zlatko Janječić<sup>1</sup>, Ivan Vnućec<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (ikos@agr.hr)

<sup>2</sup>Majkovečka ulica 61, Majkovec, 10382 Donja Zelina, Croatia

<sup>3</sup>Mendel University of Brno, Faculty of AgriSciences, Zemědělská 1, Brno, Czech Republic

### Sažetak

Cilj rada bio je utvrditi fizikalno-kemijska i senzorska svojstva tradicionalnih trajnih kobasica s dodatkom ovčjeg mesa. Istraživanjem je utvrđeno da se kalo kobasica povećavalo s povećanjem udjela ovčjeg mesa. Različiti tijek pH vrijednosti između tretmana utvrđen je na početku proizvodnje, a značajne razlike u aktivitetu vode utvrđene su na kraju. Senzorskom analizom je utvrđeno da postoje značajne razlike između kontrolnog i pokusnih tretmana. S povećanjem udjela ovčjeg mesa miris je češće bio označen kao razlikovno svojstvo što implicira izraženiji utjecaj kod većih udjela. Može se zaključiti da je dodatak ovčjeg mesa značajno utjecao na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva trajnih kobasica.

**Ključne riječi:** ovčje meso, pH, aktivitet vode, senzorska analiza, trajne kobasice

### Uvod

Trajne kobasice su popularna skupina mesnih proizvoda koje odlikuje duga održivost te izražena i specifična senzorska svojstva. Osnova proizvodnje trajnih kobasica su fermentacija, sušenje i zrenje uz dimljenje koje je primjenjivo za većinu trajnih kobasica u Hrvatskoj, ali način izrade ovisi o kulturi i navikama, podneblju kao i dostupnosti začina i aditiva (Ordóñez i de la Hoz, 2007.). Trajne kobasice u Hrvatskoj proizvode se uglavnom od svinjskog mesa, uz dodatak goveđeg mesa ili mesa divljači. Dodatak ovčjeg mesa nije uobičajen uglavnom zbog navika potrošača i alternativnih načina njegovog iskorištenja. Međutim, potencijal iskorištenja mesa starijih kategorija ovčjih trupova u trajne proizvode je velik kao što je utvrđeno pri preradi u trajne suhomesnate proizvode (Teixeira i sur., 2020.) ili trajne kobasice (Bowser i sur., 2014.; Cruxen i sur., 2018.; Leite i sur., 2015.; Lu i sur., 2014.; Stajić i sur., 2013.). Zbog drukčijih karakteristika ovčjeg mesa u odnosu na svinjsko meso, pretpostavka ovog istraživanja je da će dodatak ovčjeg mesa utjecati na promjenu kala, pH vrijednosti i aktiviteta vode tijekom proizvodnje, dok će senzorska svojstva biti izraženija u kobasicama s ovčjim mesom.

### Materijal i metode

U izradi kobasica korišteno je ovčje meso (od ženskih ovaca starih 2 godine s pozicija buta, plečke i leđa očišćeno od masnog tkiva), svinjsko meso (od muških kastriranih tovljenika tjelesne mase oko 160 kg i starosti 9 mjeseci s pozicija buta i plečke očišćeno od masnog tkiva) i svinjsko meso s 30 % leđne slanine prema odnosima prikazanim u Tablici 1. Po klanju i nakon 24 sata hlađenja sve sirovine su usitnjene na granulaciju 8 mm. Nakon usitnjavanja meso je rukama rahlo promiješano bez gnječenja i čuvano u hladnjaku na temperaturi +4 °C do upotrebe. U izradi nadjeva za kobasice korištena je jedinstvena receptura dodataka za sve tretmane (kuhinjska sol 1,1 %, nitritna sol 1 %, češnjak svježi

usitnjeni 0,25 %, ljuta paprika 0,2 %, mljeveni crni papar 0,2 %, začinska slatka paprika 0,2 % i konzumni kristalni šećer 0,2 % uz dodatak prokuhanog i ohlađenog bijelog vina 5 %). Za punjenje kobasica korištena su tanka svinjska crijeva kalibar 38-42 mm, a kobasice su oblikovane u pojedinačne parove dužine 15 cm. Oblikovani parovi kobasica su potom bile označeni, izvagani i obješeni radi ocjeđivanja i površinskog sušenja u prostoriju za dimljenje i sušenje. Dimljenje je uslijedilo nakon 18 sati uz primjenu hladnog dima temperature do 25 °C u 4 navrata s pojedinačnim trajanjem dimljenja od 3 sata, svaki drugi dan. Sušenje i zrenje je provedeno u tradicionalnim uvjetima na temperaturama od 5 do 15 °C, a ukupno trajanje proizvodnje iznosilo je 35 dana.

Tablica 1. Maseni odnosi sirovina po tretmanima izraženo u postocima

Tretman <sup>1</sup>	Ovčje meso	Svinjsko meso sa slaninom	Svinjsko meso
T-0	0	70	30
T-10	10	70	20
T-20	20	70	10
T-30	30	70	0

<sup>1</sup> T-0: tretman bez ovčjeg mesa; T-10: tretman s 10 % ovčjeg mesa; T-20: tretman s 20 % ovčjeg mesa; T-30: tretman s 30 % ovčjeg mesa

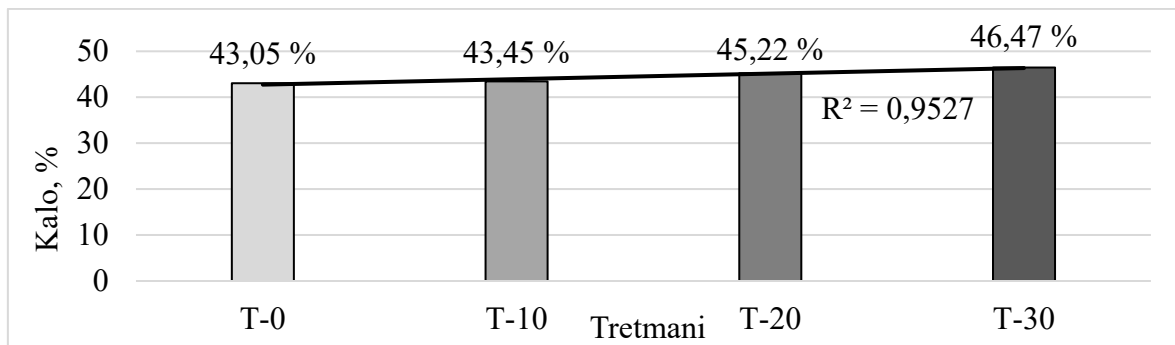
Mjerenje mase provedeno je na 10 parova kobasica svakog tretmana pomoću vage točnosti  $\pm 1$  g odmah nakon nadijevanja i na kraju proizvodnje te je izračunat relativni gubitak mase, odnosno kalo proizvodnje. Mjerenje pH vrijednosti i aktiviteta vode provedeno je u triplicatima u kobasicama nakon nadijevanja (0. dan) i kod 10., 20. i 35. dana proizvodnje. Za mjerenje pH vrijednosti korišten je pH-metar IQ 150 (IQ Scientific Instruments, USA) opremljen s kopljastom elektrodom BlueLine 21pH (Schott AG, Germany). Za mjerenje aktiviteta vode upotrijebljen je aw-analizator HygroPalm HP23-AW-A opremljen s HC2-AW sondom (Rotronic AG, Switzerland). Osnovni kemijski sastav određen je prema HRN ISO 6496:2001. (vlaga), HRN EN ISO 5983-2:2010. (protein), HRN ISO 6492:2001. (mast) u Zavodu za hranidbu životinja Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta u triplicatima, a rezultat je izražen u  $\text{g kg}^{-1}$ .

Senzorska analiza provedena je na kraju proizvodnje (35. dan) primjenom triangl testa (Lawless i Heymann, 2010.) pomoću 19 ocjenjivača (studenata i djelatnika Agronomskog fakulteta) s ujednačenim odnosom spolova (47 % muški : 53 % ženski) u individualnim boksovima. Ocjenjivači su prethodno završili osnovnu edukaciju iz područja senzorske analize i imali iskustva u senzorskim analizama u trajanju od 20 do 30 sati. Pri provedbi triangl testa ocjenjivačima su u jednom nizu predstavljena tri uzorka označena troznamenkastom šifrom te su bili zamoljeni izabrati uzorak koji smatraju različitim od preostala dva i odrediti u čemu percipiraju razliku (izgledu, mirisu, okusu, teksturi ili ostalome). Redosljed uzoraka unutar niza kao i redosljed nizova u triangl testu bio je određen potpuno slučajno. Ocjenjivači su zamoljeni da nakon uzimanja svakog pojedinačnog niza konzumiraju kruh i vodu radi neutralizacije usta i odmora osjetila.

Dobiveni podaci obrađeni su pomoću statističkog programa SAS Studio University Edition 3.71 (SAS Institute, 2018.). U analizi relativnog gubitka mase, pH vrijednosti, aktiviteta vode i kemijskog sastava korištena je procedura GLM uz primjenu Tukey-Kramer post-hoc testa za utvrđivanje značajnosti razlika između tretmana ( $P < 0,05$ ). Podaci dobiveni triangl testom obrađeni su izračunom statističke značajnosti bazirane na broju točnih odgovora (Lawless i Heymann, 2010.).

## Rezultati i rasprava

Na grafikonu 1 prikazani su iznosi relativnog gubitka mase odnosno kala. Najveće kalo kobasica utvrđeno je kod tretmana s najviše ovčjeg mesa (T-30; 46,47 %) što je predstavljalo značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) od drugih tretmana. Kalo kobasica tretmana T-20 bilo je značajno manje nego kod tretmana T-30, ali i značajno veći nego kod tretmana T-0 i T-10. Tretmani T-0 i T-10 nisu se međusobno značajno razlikovali u kalu kobasica. U konačnici je kalo kobasica kod tretmana s 30 % ovčjeg mesa bilo za 3,42 postotna boda veći od kala kobasica kod tretmana koji nije sadržavao ovčje meso. Grafička reprezentacija na grafikonu 1 prikazuje liniju trenda s koeficijentom determinacije  $R^2 = 0,9527$ , a vidljiv je uzlazni tok linije trenda kako se povećava udio ovčjeg mesa u kobasicama. Temeljem navedenog proizlazi zaključak da ovčje meso u kobasicama doprinosi značajnom povećanju kala tijekom proizvodnje, a iste zaključke prikazuju Cruxen i sur. (2018.).



Grafikon 1. Grafički prikaz kala kobasica po tretmanima i linije trenda s koeficijentom determinacije

T-0: tretman bez ovčjeg mesa; T-10: tretman s 10 % ovčjeg mesa; T-20: tretman s 20 % ovčjeg mesa; T-30: tretman s 30 % ovčjeg mesa

Promjene pH vrijednosti kobasica tijekom proizvodnje prikazane su u Tablici 2 pri desetom i dvadesetom danu proizvodnje utvrđene su statistički različite pH vrijednosti kobasica između tretmana, kada su kobasice tretmana T-30 imale najmanju pH vrijednost. Na kraju proizvodnje pH vrijednosti kobasica nisu se značajno razlikovale između tretmana. Vrijednost pH kobasica tretmana T-0 najmanje se mijenjala tijekom proizvodnje. Uočljivo je kako je pad pH vrijednosti kobasica tretmana T-30 izraženiji pri 10. danu i zadržava odnos prema drugim tretmanima. Pad pH vrijednosti u fermentiranim kobasicama rezultat je aktivnosti mliječno-kiselih bakterija kako navode Cruxen i sur. (2018.) i Lu i sur. (2014.). Iako nisu provedene mikrobiološke analize, smatra se da je povećanje udjela ovčjeg mesa rezultiralo s unosom većeg broja bakterija mliječne kiseline u nadjev kobasica. Sličan tijek pH vrijednosti kobasica s ovčjim mesom prikazuju Stajić i sur. (2013.) kao i Bowser i sur. (2014.) s naglašenim padom pH vrijednosti nakon 7. odnosno 10. dana proizvodnje. Međutim, Bowser i sur. (2014.) prikazuju znatno niže konačne vrijednosti (4,57) nego što je utvrđeno ovim istraživanjem, dok je u istraživanju Stajića i sur. (2014.) konačan pH vrijednost iznosio 5,15. Usporedivo s tim, pH vrijednosti kobasica s ovčjim mesom utvrđene u istraživanju Cruxena i sur. (2018.) iznosile su 4,88-5,20. Razlog tome vjerojatno je primjena starter kultura, industrijske fermentacije i sušenja u proizvodnji kobasica tih autora.

Statističkom analizom utvrđeno je da je promjena aktiviteta vode ( $a_w$ ) bila ujednačena i nisu ustanovljene statistički značajne razlike između tretmana tijekom proizvodnje. Na kraju proizvodnje uočena je razlika u aktivitetu vode kobasica između tretmana kako je prikazano u Tablici 2., pri čemu je najmanji aktivitet vode utvrđen u kobasicama tretmana T-30. Navedeno predstavlja statistički značajnu razliku u odnosu na tretmane T-0 i T-10 koji su



imali veći aktivitet vode. Manji iznos aktiviteta vode može se povezati s kalom koji je obrnuto proporcionalan s aktivitetom vode, a bio je značajno najveći u tretmanu T-30 (Grafikon 1). U istraživanju Cruxena i sur. (2018.) pad aktiviteta vode je bio slabiji izražen te je na kraju proizvodnje (kod 25. dana) iznosio 0,85-0,86 bez obzira na razlike u udjelu ovčjeg mesa između tretmana. Isti autor navodi da tipične fermentirane kobasice pokazuju aktivitet vode ispod 0,92 što odgovara našim rezultatima.

Tablica 2. pH vrijednosti, aktivitet vode i osnovni kemijski sastav kobasica (prosjek ± standardna greška)

Pokazatelj	Dan	Tretman <sup>1</sup>			
		T-0	T-10	T-20	T-30
pH	0	5,49 ± 0,01	5,48 ± 0,01	5,47 ± 0,01	5,46 ± 0,01
pH	10	5,45 <sup>a</sup> ± 0,02	5,38 <sup>b</sup> ± 0,01	5,41 <sup>ab</sup> ± 0,01	5,27 <sup>c</sup> ± 0,02
pH	20	5,48 <sup>ab</sup> ± 0,01	5,50 <sup>a</sup> ± 0,01	5,53 <sup>a</sup> ± 0,01	5,45 <sup>b</sup> ± 0,01
pH	35	5,56 ± 0,03	5,54 ± 0,02	5,52 ± 0,00	5,51 ± 0,03
Aktivitet vode	35	0,852 <sup>a</sup> ± 0,01	0,846 <sup>a</sup> ± 0,01	0,830 <sup>ab</sup> ± 0,01	0,819 <sup>b</sup> ± 0,01
Voda, %	35	33,15 ± 0,15	31,85 ± 0,65	29,50 ± 0,50	29,40 ± 0,60
Masti, %	35	29,50 ± 0,50	28,70 ± 0,85	29,25 ± 0,55	30,55 ± 0,65
Protein, %	35	29,65 ± 0,25	30,15 ± 0,35	30,80 ± 0,70	31,15 ± 0,75

<sup>1</sup>T-0: tretman bez ovčjeg mesa; T-10: tretman s 10 % ovčjeg mesa; T-20: tretman s 20 % ovčjeg mesa; T-30: tretman s 30 % ovčjeg mesa

Vrijednosti označene različitim slovima značajno se razlikuju (P<0,05)

Između tretmana nisu utvrđene statistički značajne razlike (P>0,05) u komponentama osnovnog kemijskog sastava (Tablica 2). Sadržaj vode trajnih kobasica iznosio je od 29,40 do 33,15 %. Prema Pravilniku o mesnim proizvodima (NN 62/2018.) zadano je da sadržaj vode trajnih kobasicama smije biti najviše 40 %. Stoga, kobasice iz ovog istraživanja u potpunosti odgovaraju uvjetima iz Pravilnika. Sadržaj masti i proteina bio je vrlo ujednačen i iznosio je oko 30 % što je rezultat pažljivog sastavljanja recepture usprkos promjenjivom odnosu svinjskog i ovčjeg mesa. Osnovni kemijski sastav trajnih kobasica u skladu je s rezultatima drugih istraživanja na ovčjim kobasicama (Bowser i sur., 2014.; Stajić i sur., 2013.).

U Tablici 3. prikazani su rezultati senzorske analize trajnih kobasica s dodatkom ovčjeg mesa provedene pomoću triangl testa. S obzirom na broj ukupnih odgovora (38) bilo je potrebno dati 19 točnih odgovora u testiranju parova da bi razlika u triangl testu bila statistički značajna. Statistički gledano utvrđena je značajna razlika u sva tri triangl para, odnosno ocjenjivači su potvrdili da između kontrolnog tretmana T-0 i pokusnih (T-10, T-20, T-30) postoji značajna razlika. Uočeno je da s povećanjem udjela ovčjeg mesa raste i udio točnih odgovora. Tako je postotak točnih odgovora kod triangl para T-0 : T-10 bio 55,3 %, kod para T-0 : T-20 bio 73,7 %, a najveći postotak točnih odgovora utvrđen je u triangl paru T-0 : T-30 (81,6 %).

Tablica 3. Rezultati senzorske analize trajnih kobasica s dodatkom ovčjeg mesa proveden pomoću triangl testa

Parovi tretmana <sup>1</sup>	Broj ukupnih odgovora	Broj točnih odgovora	Postotak točnih odgovora	P-vrijednost
T-0 : T-10	38	21	55,3 %	< 0,001
T-0 : T-20	38	28	73,7 %	< 0,001
T-0 : T-30	38	31	81,6 %	< 0,001

<sup>1</sup>T-0: tretman bez ovčjeg mesa; T-10: tretman s 10 % ovčjeg mesa; T-20: tretman s 20 % ovčjeg mesa; T-30: tretman s 30 % ovčjeg mesa

Iz analize učestalosti primijećenih razlika po svojstvima utvrđeno je da su ocjenjivači najčešće iskazali razliku između uzoraka u svojstvu izgleda u 30,89 % odgovora što je očekivano s obzirom da kobasice s većim udjelima ovčjeg mesa imaju izraženiju boju kako je utvrđeno u istraživanjima Stajića i sur. (2013.). Nakon svojstva izgleda, iduća svojstva koja su ocjenjivači češće iskazali razlikovno između uzoraka bila su svojstvo okusa (u 27,03 % odgovora) i teksture (u 24,01 % odgovora). Analizom je utvrđeno da je miris označen kao razlikovno svojstvo između uzoraka u svega 14,92 % odgovora. Dodatnom analizom utvrđen je rast izražavanja mirisa kao razlikovnog svojstva od 9,52 % odgovora kod usporedbe kobasica T-0 : T-10 do 20,00 % kod usporedbe kobasica T-0 : T-30. Stoga možemo zaključiti da miris nije bio često prepoznat kao razlikovan kod malih udjela ovčjeg mesa, već je razlika između uzoraka pripisana drugim svojstvima (dominantno izgledu i okusu). Međutim, s povećanjem udjela ovčjeg mesa miris je češće bio označen kao razlikovno svojstvo što implicira njegov izraženiji utjecaj kod većih udjela.

### Zaključak

Temeljem dobivenih rezultata možemo istaknuti da se s dodatkom ovčjeg mesa u kobasicama značajno povećava kalo. Nadalje, s dodatkom ovčjeg mesa značajno se smanjuje aktivitet vode u kobasicama na kraju proizvodnje, dok se pH vrijednost izraženije smanjuje u početnim fazama proizvodnje. Utvrđeno je da se s dodatkom ovčjeg mesa mijenja senzorski profil kobasica i jasno se uočava razlika između kobasica. Najčešće je iskazana razlika između uzoraka u svojstvu izgleda, a zatim u svojstvu okusa i teksture. S povećanjem udjela ovčjeg mesa u kobasicama miris je češće bio označen kao razlikovno svojstvo što implicira njegov izraženiji utjecaj kod većih udjela.

### Napomena

Rad je izvod iz diplomskog rada Mateje Kocek, mag. ing. agr., naslova „Tehnološka karakterizacija i senzorska svojstva trajnih kobasica s dodatkom ovčjeg mesa”.

### Literatura

- Bowser T., Mwavita M., Al-Sakini A., McGlynn W., & Maness N. (2014). Quality and Shelf Life of Fermented Lamb Meat Sausage with Rosemary Extract. *The Open Food Science Journal*. 8: 22-31.
- Cruxen C. E. S., Braun C. L. K., Fagundes M. B., Gularte M. A., Wagner R., Padilha da Silva W., Fiorentini A. M. (2018). Development of fermented sausage produced with mutton and native starter cultures. *LWT*. 95: 23-31. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.060>
- HRN ISO (2001). Stočna hrana – određivanje vode i udjela drugih hlapljivih tvari. Broj 6496. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
- HRN ISO (2001). Stočna hrana – određivanje udjela masti. Metoda modificirana prema uputama sustava za ekstrakciju ANKOM XT 15. Broj 6492. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
- HRN EN ISO (2010). Hrana za životinje – određivanje količine dušika i izračunavanje količine sirovih proteina – 2. dio: Razaranje u bloku/metoda destilacije parom. Broj 5983-2. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.
- Lawless H. T. i Heymann H. (2010). *Sensory Evaluation of Food Principles and Practices*. Second edition. Springer, USA.
- Leite A., Rodrigues S., Pereira E., Paulos K., Oliveira A. F., Lorenzo J.M., Teixeira A. (2015). Physicochemical properties, fatty acid profile and sensory characteristics of sheep and goat meat sausages manufactured with different pork fat levels. *Meat Science*. 105: 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.03.015>
- Lu Y., Young O. A., Brooks J. D. (2014). Physicochemical and sensory characteristics of fermented sheepmeat sausage. *Food Science & Nutrition*. 2 (6): 669-675. <https://doi.org/10.1002/fsn3.151>

- Ordóñez J.A. i de la Hoz L. (2007). Mediterranean products. In Handbook of Fermented Meat And Poultry; Toldrà, F., Ed.; Blackwell Publishing: Ames, IA, USA, 2007; pp. 333–347.
- SAS Institute (2018). SAS Studio University Edition, release: 3.71.
- Stajić S., Perunović M., Stanišić N., Žujović M., Živković D. (2013). Sucuk (Turkish-Style Dry-Fermented Sausage) Quality As An Influence Of Recipe Formulation And Inoculation Of Starter Cultures. *Journal of Food Processing and Preservation*. 37: 870-880. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00709.x>
- Teixeira A., Silva S., Guedes C., Rodrigues S. (2020). Sheep and Goat Meat Processed Products Quality: A Review. *Foods*. 9 (7): 960. <https://doi.org/10.3390/foods9070960>

## **The effect of mutton addition on physicochemical and sensory traits of traditional dry sausages**

### **Abstract**

The aim of this study was to determine the physicochemical and sensory traits of traditional dry sausages with the addition of mutton. Within this study, it was found that the average weight loss increased with increasing proportion of mutton. Different course of pH change was established at the beginning, and significant differences in water activity were found at the end of production. It was found that there are significant differences in sensory traits between control and experimental treatments. With the increase in the proportion of mutton, the odour was more often marked as a distinguishing trait, which implies its more pronounced influence at higher proportions. It could be concluded that the addition of mutton significantly affected the physicochemical and sensory traits of dry sausages.

**Key words:** mutton, pH, water activity, sensory analysis, dry sausages

## Zarazna šepavost ovaca u Hrvatskoj

Antun Kostelić, Lucija Usorac, Krešimir Salajpal, Boro Mioč

*Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska  
(akostelic@agr.hr)*

### Sažetak

Cilj rada bio je utvrditi područja Hrvatske u kojima se javlja zarazna šepavost ovaca, zatim prevalenciju, način liječenja i preventive. Tijekom tri godine istraživanje je provedeno u 37 stada ovaca. Dijagnoza bolesti temeljila se na inspekciji, palpaciji i pretrazi mirisom. Podaci o načinu liječenja i preventivi dobiveni su od uzgajivača. Istraživanjem je utvrđeno da se zarazna šepavost javlja na većini područja Hrvatske izuzev Dalmacije i otoka. Utvrđeno je da je bolest prisutna jedino na otoku Krku na ograničenom području u okolici Malinske i Omišlja. Bolest se isključivo javlja u stadima držanim na paši. Ovim istraživanjem je utvrđeno da se prevalencija kretala od 3,44 do 15,38 %. Liječenje se svodi na korekciju zaraženih papaka nožem ili škarama te prskanjem antibiotikom. U niti jednom uzgoju uzgajivači ne koriste bazene za dezinfekciju papaka. Utvrđeno je da se vakcinacija ovaca ne provodi na području Hrvatske zbog nedostatka registrirane vakcine. Istraživanjem je utvrđeno da bi se učestalost pojave bolesti značajno smanjila pravovremenim izdvajanjem i liječenjem zaraženih ovaca te primjenom bazena za dezinfekciju papaka.

**Ključne riječi:** ovce, bolesti, liječenje, preventiva

### Uvod

Zarazna šepavost je bolest koja se javlja u stadima ovaca širom svijeta i uzrokuje značajne gubitke u proizvodnji mlijeka i mesa. Aitken (2007.) navodi da je pojava bolesti uvjetovana vlagom, temperaturom, tipom pašnjaka i gustoćom napasivanja. Bolest može uzrokovati velike ekonomske gubitke u proizvodnji (Winter, 2009.), a očituje se smanjenim prirastom i mliječnosti. Uzročnici bolesti su dvije bakterije *Fusobacterium necrophorum* i *Dichelobacter nodosus*. Do infekcije dolazi boravkom ovaca na pašnjacima i putovima gdje su boravile zaražena stada. U uzgoj se uzročnik može unijeti i uvođenjem novih životinja (Gelasakis i sur., 2019.). Šepavost nastaje kao posljedica infekcije međupapčanog prostora i unutar samog papka pri čemu dolazi do nekrotičnih promjena koje rezultiraju odvajanjem rožine papka. Bolest može zahvatiti jednu ili više nogu (Pugh i Baird, 2012.). Pored šepanja bolest se očituje klečanjem na karpalnim zglobovima prilikom ispaše ili držanja u staji (Sargison, 2007.). Gubitci se mogu očitovati smanjenom konzumacijom hrane posljedično tome postupnim mršavljenjem i padom mliječnosti. Bolest se može uspješno liječiti, međutim ovisno o području držanja i broju zaraženih životinja a vrlo često se javlja i nakon liječenja (Winter, Phytian 2010.). Rupić (2009.) navodi da prevalencija zarazne šepavosti može iznositi 100 %, isto navode i Storms i sur. (2021.) koji navode da se prevalencija može kretati u rasponu od 0,5 do 100 %. Ovisno o stupnju infekcije, kod blažih oblika u liječenju se koristi samo antibiotski sprej. Kod težih slučajeva nožem i škarama se uklanja podminirana rožina do mjesta gdje rožina čvrsto prijanja za papak (Pugh, Baird 2012.). Preventiva bolesti se pored redovite korekcije papaka provodi korištenjem bazena za dezinfekciju papaka, a ovisno o dostupnosti vakcine, i vakcinacijom. Sargison (2007.) navodi da je korištenje bazena za dezinfekciju najefikasniji način liječenja u početnim stadijima bolesti. Cilj rada bio je utvrditi područja u Hrvatskoj na kojima se zarazna šepavost pojavljuje, prevalenciju, načine liječenja i preventive.

## Materijal i metode

Istraživanje je provedeno u 37 stada od toga u 4 na području Istre, 2 na Krku, jednom na Banovini, 4 u Slavoniji, 2 u okolici Bjelovara, 4 u Lici, 10 na Pagu, 4 na Braču, 4 na Rabu i 2 u kontinentalnom dijelu Dalmacije. Veličina stada se kretala od 58 do 357 grla svih kategorija. Dijagnoza bolesti temeljila se na anamnestičkim podacima, inspekciji, palpaciji i pretrazi mirisom. Pristup i načini liječenja dobiveni su na temelju podataka dobivenih od uzgajivača ovaca.

## Rezultati i rasprava

Istraživanjem je utvrđeno da se zarazna šepavost pojavljuje u stadima ovaca na većini područja Hrvatske izuzev Dalmacije i jadranskih otoka. Rupiće (2009.) navodi da se bolest ne javlja na jadranskim otocima. Kostelić (2015.) navodi da se bolest pojavila na Krku prije skoro dva desetljeća, a pretpostavlja se da su izvor bili zaraženi ovnovi dovedeni s područja Gorskog Kotara. U ovom istraživanju bolest je dijagnosticirana u dva stada na Krku u okolici Malinske i Omišlja na temelju čega možemo zaključiti da bolest nije iskorijenjena s otoka. Kao što je navedeno bolest nije utvrđena na ostalim otocima i u Dalmaciji. Na pojavu bolesti utječe vlažnost i tip pašnjaka (Aitken, 2007.). Obzirom da u Dalmaciji prevladava mediteranska klima s dugim sušnim razdobljima, a da se veliki dio stada napasuje na krškim pašnjacima predisponirajući faktori za pojavu bolesti su minimalni. Najveći rizik za pojavu bolesti u Dalmaciji i na otocima je uvođenje zaraženih ovaca u uzgoj ili na neko područje. Gelasakis i sur. (2019.) također navode da pojava bolesti u uzgoju može biti uvjetovana uvođenjem zaraženih grla u uzgoj.

Tablica 1. Prevalencija zarazne šepavosti ovisna o području držanja i veličini stada

Stado	Broj grla	Broj zaraženih	Prevalencija %
Istra			
1	58	8	13,79
2	63	9	14,28
3	78	8	10,25
4	161	15	9,31
Krk			
1	87	3	3,44
2	123	9	7,31
Banovina			
1	143	22	15,38
Slavonija			
1	121	13	10,74
2	73	9	12,32
Bjelovar			
1	95	6	6,31
2	83	5	6,02
Lika			
1	99	9	9,09
2	233	23	9,87
3	283	14	4,94
4	357	27	7,56

Iz Tablice 1. vidljivo je da se prevalencija zarazne šepavosti u ovom istraživanju kretala od 3,44 % do 15,38 %. U dva stada ovaca u Slavoniji u kojima se intenzivno proizvodi mlijeko, a ovce se povremeno se puštaju na ispašu bolest nije dijagnosticirana. Za razliku od navedenog, bolest je dijagnosticirana u dva stada u kojima je osnovni cilj proizvodnja janjadi

za klanje pri čemu se stada veći dio godine napasuju. Gelasakis i sur. (2019.) navode da su mliječna stada u poluintenzivnoj i intenzivnoj proizvodnji najosjetljivija za pojavu bolesti. Isti autori navode da se preventivu bolesti treba temeljiti na sprječavanju uvođenja zaraženih životinja u stado, zatim sprječavanjem širenja bolesti unutar stada i vakcinacijom. U istraživanju provedenom na različitim područjima Njemačke u 207 stada *D. nodosus* utvrđen u 42,93 % populacije ovaca na godišnjoj razini (Storms i sur., 2021.). U našem istraživanju je utvrđeno da se prevalencija zarazne šepavosti kretala od 3,44 do 15,38 %. Bolest se može liječiti na dva načina korekcijom papaka, odnosno uklanjanjem podminirane rožine, te tretiranjem antibiotskim sprejem ili otopinom dezinficijensa (Scott, 2015.). Slijedeća metoda je parenteralna terapija antibioticima. Istraživanjem je utvrđeno da se najčešće koristi prva metoda koja se temelji na korekciji papaka i tretiranju antibiotskim sprejem. Ovim istraživanjem je utvrđeno da uzgajivači u Hrvatskoj nakon liječenja pušta ovce na pašnjake na kojima su boravile zaražene ovce čime dolazi do reinfekcije. Nadalje utvrđeno je da uzgajivači ne koriste kupke (bazene) za dezinfekciju papaka iako se ta metoda koristi u većini razvijenih ovčarskih zemalja u kojima je trajno prisutan problem zarazne šepavosti. Sargison (2007.) navodi da bi stado nakon terapije trebalo boraviti na suhim površinama. Uzgajivači korekciju papaka u većini stada provode jednom godišnje i to tijekom striže ovaca. Ako se radi o stadima u kojima je prisutna zarazna šepavost program suzbijanja bolesti u stadu trebao bi se provoditi kontinuirano, dok se bolest ne iskorijeni iz stada ili značajno smanji prevalencija (Winter, Phytian 2010.). Istraživanjem je utvrđeno da je jedan od velikih nedostataka u suzbijanju bolesti nekorištenje bazena za dezinfekciju papaka. Sargison (2007.) navodi da uzročnik *D. nodosus* preživljava četiri dana u tlu i da se stoga može provesti iskorjenjivanje bolesti iz zaraženih stada pogotovo ako će se program provoditi tijekom suhog razdoblja.

## Zaključak

Istraživanjem je utvrđeno da se zarazna šepavost ovaca javlja na skoro svim područjima Hrvatske izuzev otoka i Dalmacije. Jedini otok na kojemu je bolest i danas prisutna je Krk. Prevalencija se kretala od 3,44 do 15,38 %. Uzgajivači bolest liječe korekcijom papaka i prskanjem antibiotikom, dok u preventivne svrhe se ne koriste bazeni za dezinfekciju papaka u niti jednom stadu uključenom u istraživanje kao niti vakcinaciju. Istraživanjem je utvrđeno da bi se učestalost pojave bolesti značajno smanjila pravovremenim izdvajanjem i liječenjem zaraženih ovaca, primjenom bazena za dezinfekciju papaka, te uvođenjem vakcinacije.

## Literatura

- Aitken I. D. (2007). Diseases of sheep. Fourth edition. Blackwell Publishing. 499-500.
- Gelasakis A. I., Kalogianni A. I., Bossis I. (2019). Aetiology, Risk Factors, Diagnosis and Control of Foot-Related Lameness in Dairy Sheep. *Animals*. 9: 509.
- Kostelić A. (2015). Preventiva bolesti ovaca na kvarnerskim otocima. Priručnik. Hrvatska mljekarska udruga. Zagreb. 16-19: 52-53.
- Pugh D. G., Baird A. N. (2012). Sheep and goat medicine. Elsevier. 77-79.
- Rupić V. (2009). Zaštita zdravlja domaćih životinja. Zarazne i parazitske bolesti. Hrvatska mljekarska udruga. 163-165.
- Sargison N. (2008). Sheep flock health a planned approach. Blackwell Publishing. 307-313.
- Scott P. R. (2015). Sheep medicine. Second Edition. CRC Press. 238-240.
- Storms J., Wirth A., Vasiliadis D., Brodard I., Hamann-Thölken A., Ambros C., Moog U., Jores J., Kuhnert P., Distl O. (2021). Prevalence of *Dichelobacter nodosus* and Ovine Footrot in German Sheep Flocks. *Animals*. 11: 1102.
- Winter A. C. (2009). Footrot control and eradication (elimination) strategies. *Small Ruminant Research*. 86. 90-93.
- Winter A., Phytian C. (2010). Sheep Health, Husbandry and Disease. The Crowood Press. 176-180.

## Footrot in sheep in Croatia

### Abstract

The goal of the research was to determine areas of sheep foot rot occurrence in Croatia, prevalence, treatment method and preventive measures. During a three-year period, the research was conducted in 37 flocks of sheep in different areas. The diagnosis of the disease was based on inspection, palpation and smell. Data on treatment methods and preventive measures was obtained from the breeders. The research determined that foot rot occurs in almost all regions of Croatia, except Dalmatia and the Islands. It was determined that the only island where the disease occurs is on the Krk Island, in a limited area in the vicinity of Malinska and Omišalj. The disease occurs only in flocks kept on pastures. This research established that prevalence was between 3.44 and 15.38%. Treatment comes down to correction of the infected hoof by using a knife or scissors and spraying with antibiotics. Not a single breeder uses a disinfection footbath. It was established vaccination is not carried out in Croatia due to lack of registered vaccine. The study determined that the frequency of occurrence of the disease would be drastically reduced by timely allocation and treatment of infected sheep and by using disinfection footbaths.

**Key words:** sheep, disease, treatment, control

## Utjecaj težinskih razreda konzumnih jaja na pokazatelje kvalitete

Zlata Kralik<sup>1,2</sup>, Gordana Kralik<sup>2,3</sup>, Danica Hanžek<sup>1,2</sup>, Žarko Radišić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska (zlata.kralik@fazos.hr)

<sup>2</sup>Znanstveni centar izvrsnosti za personaliziranu brigu o zdravlju, Sveučilište Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku, Trg Svetog Trojstva 3, 3100 Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Nutricin j.d.o.o. Darda, 31326 Darda, Hrvatska

### Sažetak

Cilj istraživanja bio je odrediti utjecaj težinskih razreda jaja na pokazatelje kvalitete. Istraživanje kvalitete jaja obavljeno je na ukupno 120 jaja, podrijetlom od kokoši Tetra SL držanih u obogaćenim kavezima i hranjenih komercijalnom krmnom smjesom za nesilice izbalansirano na 17,6 % proteina i 11,84 MJ ME/kg hrane. Prikupljena jaja podijeljena su u 4 razreda prema masi S (<53 g), M (53-63 g) L(63-73 g) i XL (>73 g). Pokazatelji kvalitete jaja utvrđeni su uređajem Nobel Digital Egg Tester 6500, dok je pH vrijednost žumanjaka i bjelanjaka utvrđena pH metrom. Visina i dužina jaja određena je pomičnom mjerkom, masa osnovnih dijelova vagom, a vrijednosti su korištene za izračun indeksa oblika i udjela osnovnih dijelova u jajetu. U istraživanju je utvrđeno da razred jaja ima utjecaj na indeks oblika, masu jaja, visinu, širinu i indeks žumanjka, debljinu ljuske, pH bjelanjka i žumanjka, te udjele osnovnih dijelova ( $P < 0,05$ ), a nema utjecaja na visinu bjelanjka, HJ, boju žumanjka i čvrstoću ljuske ( $P > 0,05$ ).

**Ključne riječi:** kvaliteta jaja, težinski razredi jaja, DET 6500

### Uvod

Primarna uloga kokošnjih jaja je razmnožavanje, te je struktura hranjivih tvari u jajima vrlo kompleksna jer mora zadovoljiti rast i razvoj zametka. Međutim jaje se ne koristi samo u cilju razmnožavanja kokoši ono je vrlo cijenjena animalna namirnica, zastupljena u prehrani ljudi kao gotov proizvod ili kao sastojak u pripremi drugih prehrambenih namirnica. Osim hranjive vrijednosti jaja su cijenom povoljna, te se svakodnevno koriste u pripremanju obroka (Kralik i sur., 2014.). Prema podacima za 2019. godinu, u RH proizvedeno je 602 246 000 komada jaja (Tisup, 2020.) a prosjek potrošnje konzumnih jaja po članu kućanstva u 2017. iznosi 138 kom jaja/godišnje (Statističko izvješće, 2018.). Jaja se na tržište dostavljaju pakirana u kartonske kutije u kojima su složena u manje prikladne podloške po 6, 10 ili 30 komada u pakiranju. Čuvanjem jaja moguća su oštećenja ljuske. Tijekom stajanja jaja u rashladnoj vitrini u trgovini događa se izmjena plinova kroz pore ( $O_2$  i  $CO_2$ ), razaraju se proteini, stvara se amonijak i povećavaju se pH vrijednosti bjelanjka i žumanjka (Fernandes, 2008.). Ukoliko je ljuska jaja oštećena ovi procesi su još intenzivniji a jaje podložno kvarenju. Stoga se jaja prema Pravilniku o kakvoći jaja (NN115/06.; 69/07 i 76/08.) mogu na tržištu prodavati 28 dana od stavljanja u police. Kvalitetu jaja obilježavaju vanjski i unutarnji pokazatelji koji se mogu mjeriti manualno ili različitim automatskim uređajima. Nabel Digital Egg Tester 6500 novi je uređaj na tržištu a koristi se za mjerenje različitih pokazatelja vanjske i unutarnje kvalitete jaja. Prednost ovog uređaja u odnosu na druge je dobivanje podataka o vrijednostima mase jaja, čvrstoće ljuske, HJ, visine bjelanjka i žumanjaka, širine žumanjka, indeksa žumanjka, boje žumanjka za nešto više od 17 sek/kom. Na uređaj je moguće priključiti digitalni mjerač debljine ljuske.



## Materijal i metode

Jaja su bila podrijetlom od nesilica hibrida Tetra SL koje su se nalazile u 3 mjesecu proizvodnje. Hranjene su komercijalnom krmnom smjesom s 17,6 % sirovih proteina i 11,84 MJ ME/kg hrane, a hranu i vodu konzumirale su *ad libitum*. Za potrebe analize kvalitete jaja korišteno je po 30 jaja različitih težinskih razreda (S, M, L, XL), donosno ukupno je analizirano 120 jaja. Prema Pravilniku o kakvoći jaja (NN 115/06.; 69/07. i 76/08.) na tržište se plasiraju jaja prema razredima, a razredi se razlikuju prema masi jaja. Jaja S razreda su ona koja imaju masu manju od 53 g, jaja M razreda imaju masu od 53-63 g, L razreda su jaja s masom od 63-73 g i jaja XL razreda imaju masu veću od 73 g. Analiza pokazatelja kvalitete jaja je obavljena u Laboratoriju za animalnu proizvodnju i biotehnologiju, na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti u Osijeku, nakon 24 sata čuvanja u hladnjaku na 4°C. Dužina i širina jaja mjerena je pomoću pomične mjerke s rasponom mjerenja 0-30 mm/0-12" (Insize, USA). Indeks oblika izračunat je iz mjera širine i dužine jaja prema sljedećoj formuli: indeks oblika (%) = širina jajeta/dužina jajeta\*100. Masa osnovnih dijelova jaja (bjelanjak, žumanjak i ljuska) utvrđena je pomoću vage PB 1502-S (Mettler Toledo, BBK 422-6 DXS). Automatskim uređajem Digital Egg Tester - DET 6500 (Nabel, Co., Ltd, Japan) izmjereni su sljedeći pokazatelji kvalitete jaja: masa jaja (g), čvrstoća (N) i debljina ljuske (mm), boja žumanjka, Hough jedinice (HJ), visina bjelanjka (mm), visina žumanjka (mm), promjer žumanjka (mm), indeks žumanjka. U programu DET 6500 vrijednosti HJ i indeksa žumanjka računaju se pomoću sljedećih izraza:  $HU=100 \times \log (H-1.7W^{0.37+7.6})$ , indeks žumanjka=visina žumanjka/promjer žumanjka \*100. Boja žumanjka vrijednuje se po novoj DSM Roshe lepezi koja pokazuje intenzitet boje od 1-16. Vrijednosti pH bjelanjka i žumanjka, izmjerene su pH metrom MP 120 (Mettler Toledo, model SevenEasy). Rezultati istraživanja obrađeni su pomoću statističkog programa TIBCO Statistica Version 13.5.0.17 (1984.-2018. TIBCO® Statistica™ Inc). Od statističkih parametara prikazani su aritmetička sredina () i standardna devijacija (sd). Ispitivanje značajnosti razlika između skupina utvrđeno je korištenjem GLM procedure pomoću analize varijance. Izračunata F vrijednost uspoređena je s kritičnom teoretskom F vrijednošću na razini značajnosti 5 %. Značajnost razlika između srednjih vrijednosti određena je pomoću Fisherovog LSD-testa.

## Rezultati i rasprava

Na tablici 1 prikazani su pokazatelji vanjske i unutarnje kvalitete jaja razreda S, M, L, i XL. Indeks oblika dobiven je računskim putem iz mjera širine i dužine jaja, a važan je pokazatelj vanjske kvalitete jaja. Ukoliko su jaja svojim oblikom neprikladna za pakiranje, tijekom transporta jaja od farme do prodajnog mjesta bit će povećan lom ljuske. Oštećenje ljuske nije prihvatljivo upravo radi toga što oštećena ljuska omogućuje ulazak različitih mikroorganizama u jaje, te se pojačano odvijaju kremijski procesi unutar jaja. Optimalni indeks oblika za kokošja jaja je 74 % (normalna, standardna jaja), dok jaja s indeksom 72 % imaju duguljast oblik, a s indeksom oblika 76 % okruglastog su oblika (Anderson i sur., 2004.). U našem istraživanju najveću vrijednost indeksa oblika imala su jaja S razreda (79,08 %), koja imaju okrugli oblik, dok su najmanju vrijednost imala jaja XL razreda koja se više približavaju pravilnom jajolikom obliku. Veličina jajeta i kvaliteta ljuske su povezani, tijekom proizvodnog ciklusa kako se masa jaja povećava, vrijednosti debljine i čvrstoće ljuske se smanjuju (Harms i sur., 1990.), što znači da jaja manje mase imaju čvršću i deblju ljusku u odnosu na jaja veće mase. U našem istraživanju utvrđeno je da jaja manje mase imaju čvršću ljusku (S-39,61 N i M-40,64 N) u odnosu na jaja veće mase (L-38,67 N i XL-37,54 N). Utvrđena je statistički značajna razlika između ispitivanih razreda ( $P<0,001$ ) za vrijednosti debljine ljuske. Debljina ljuske jaja se kretala od 0,379 mm (M razred) do 0,478 mm (S razred). De Ketelaere i sur. (2002.) navode da se prosječna vrijednost debljine

ljuske za kokošja jaja kreće u rasponu od 0,32 do 0,36 mm, što pokazuje da je debljina ljuske jaja u ovom istraživanju značajno iznad preporučenih vrijednosti. Shi i sur. (2009.) navode da je debljina ljuske jaja statistički značajno veća kod jaja L razreda u odnosu na jaja manje mase (S i M). Njihovi rezultati nisu sukladni našima. Najčešće prikazivani pokazatelji svježine jaja su visina bjelanjka i HJ, koje su pod utjecajem vremena i temperature čuvanja jaja, no na HJ utjecaj može imati i starost jata (Silversides i Villeneuve, 1994.). Vrijednosti ova dva pokazatelja su povezana, te u većini slučajeva smanjenjem visine bjelanjka smanjuju se i HJ i obrnuto. U provedenom istraživanju najmanja vrijednost visine bjelanjka zabilježena je kod jaja S razreda (6,01 mm) a najveća kod jaja M razreda (6,62 mm). Sukladno vrijednostima za visinu bjelanjka kretale su se i vrijednosti HJ koje su najmanje bile kod S jaja 75,21 a najveće kod M jaja 79,83 ( $P>0,05$ ).

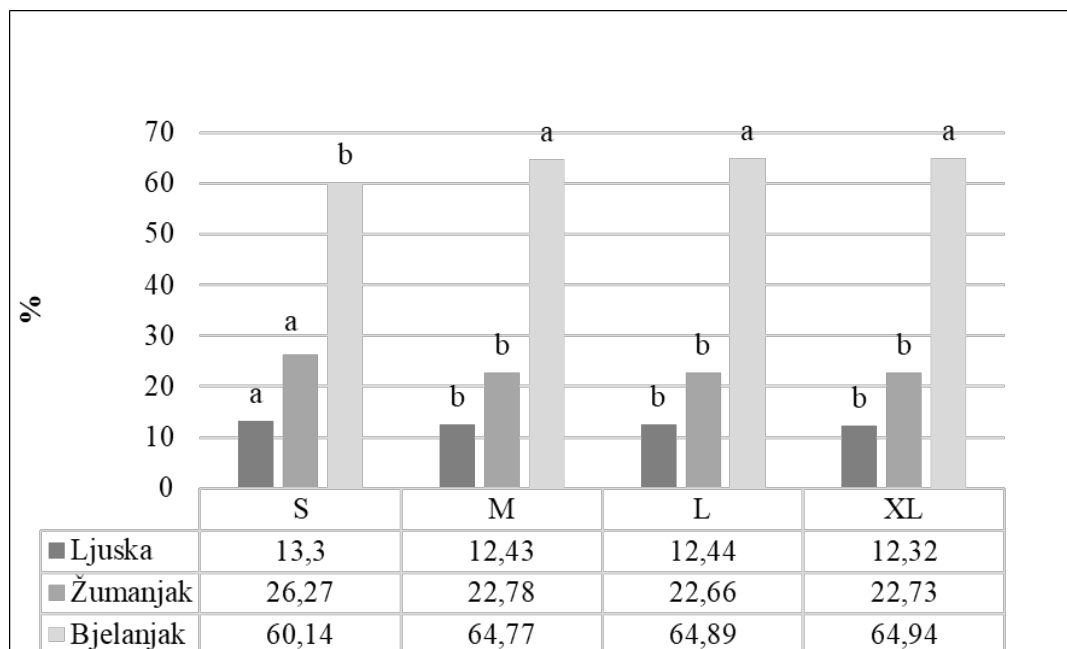
Tablica 1. Utjecaj razreda (S, M, L, XL) na pokazatelje kvalitete jaja

Pokazatelji	S	M	L	XL	P vrijednost
<sup>1</sup> Masa jaja, g	49,80±3,38 <sup>d</sup>	56,31±2,37 <sup>c</sup>	64,45±1,93 <sup>b</sup>	73,69±1,04 <sup>a</sup>	<0,001
<sup>2</sup> Indeks oblika, %	79,08±1,51 <sup>a</sup>	79,17±2,59 <sup>ab</sup>	77,77±2,41 <sup>b</sup>	76,11±2,70 <sup>c</sup>	<0,001
<sup>1</sup> Čvrstoća ljske, N	39,61±12,77	40,64±7,25	38,67±14,80	37,54±12,61	0,787
<sup>2</sup> Čvrstoća ljuske, kg/cm <sup>2</sup>	3,99±1,28	4,14±0,74	3,90±1,49	3,78±1,27	0,721
<sup>1</sup> Debljina ljuske, mm	0,478±0,05 <sup>a</sup>	0,397±0,05 <sup>c</sup>	0,439±0,03 <sup>b</sup>	0,461±0,02 <sup>a</sup>	<0,001
<sup>1</sup> Visina bjelanjka, mm	6,01±1,1,04	6,62±0,79	6,33±1,09	6,44±1,01	0,108
<sup>1</sup> HJ	75,21±8,85	79,83±6,40	77,44±7,65	75,76±8,30	0,104
<sup>1</sup> Boja žumanjka	9,76±0,89	9,73±0,63	9,83±0,64	10,20±0,84	0,074
<sup>1</sup> Visina žumanjka, mm	15,31±1,87 <sup>c</sup>	16,86±1,12 <sup>ab</sup>	16,48±1,22 <sup>b</sup>	17,20±1,26 <sup>a</sup>	<0,001
<sup>1</sup> Širina žumanjka, mm	37,85±3,72 <sup>b</sup>	37,74±1,69 <sup>b</sup>	39,55±2,61 <sup>a</sup>	40,62±2,72 <sup>a</sup>	<0,001
<sup>1</sup> Indeks žumanjak	0,410±0,07 <sup>c</sup>	0,447±0,02 <sup>a</sup>	0,424±0,03 <sup>b</sup>	0,424±0,03 <sup>b</sup>	<0,01
<sup>3</sup> pH bjelanjka	8,43±0,18 <sup>b</sup>	8,33±0,15 <sup>c</sup>	8,34±0,12 <sup>c</sup>	8,54±0,18 <sup>a</sup>	<0,001
<sup>3</sup> pH žumanjak	6,12±0,05 <sup>b</sup>	6,07±0,08 <sup>c</sup>	6,17±0,06 <sup>a</sup>	6,08±0,03 <sup>c</sup>	<0,001

<sup>1</sup>mjereno Digital Egg Testerom 6500; <sup>2</sup>vrijednosti dobivene računskim putem; <sup>3</sup> mjereno pH metrom; eksponenti iznad brojeva u redovima <sup>a,b,c</sup> pokazuju značajnu razliku između ispitivanih razreda jaja na razini  $P<0,001$  i  $P<0,01$

Sa stajališta konzumenta, boja žumanjka važan je organoleptički pokazatelj kvalitete jaja. Na boju žumanjka utjecaj ima hranidba kokoši, odnosno zastupljenost prirodnih ili umjetnih pigmentata kao što su lutein i zeaksantin. Boja žumanjka se mjeri DSM Rosheovom lepezom koja ima skalu nijansi od 1 do 15, gdje je 1 označavalo svjetlo žuto, a 15 tamno žuto do narančasto. Unazad dvije godine DSM je na tržište plasirao Rosheovu lepezu sa skalom od 1 do 16. U našem istraživanju boja žumanjka je određena DET 6500 uređajem u čijem je programu boja definirana prema novoj skali (1-16), a vrijednosti boje žumanjka bile su ujednačene i kretale su se od 9,73 do 10,20 ( $P=0,074$ ). Indeks žumanjka je pokazatelj koji opisuje svježinu jaja. Dobiva se računskim putem iz mjera visine i širine žumanjka. Što su vrijednosti indeksa veće jaje je svježije. Stajanjem jaja duže vrijeme u neprimjerenim uvjetima skladištenja dolazi do razgradnje sadržaja žumanjka što negativno utječe na njegovu visinu i širinu, a posljedično i na indeks. Indeks žumanjka razreda M statistički je značajno veći u odnosu na jaja ostalih ispitivanih razreda ( $P<0,01$ ). Da su jaja M razreda najbolja po kvaliteti osim indeksa žumanjka potvrđuju i vrijednosti HJ i visine bjelanjka koje su kod ovih jaja najpovoljnije. Vrijednost pH bjelanjaka i žumanjka dobar su pokazatelj promjene u kvaliteti bjelančevina i masti koje se događaju tijekom vremena. Kralik i sur. (2008.) navode da je kod tek snesenih jaja pH žumanjka 6,0 a pH bjelanka 7,6. Uslijed izmjene plinova kroz pore ljuske kao posljedica povećava se vrijednost pH, smanjuje se viskoznost bjelanjka što utječe na njegovu visinu i HJ. U našem istraživanju utvrđen je utjecaj razreda jaja na pH vrijednosti bjelanjaka i žumanjaka ( $P<0,001$ ). Statistički značajno

veće pH vrijednosti bjelanjaka utvrđene su kod XL jaja u odnosu na druge pokusne skupine, dok je kod pH žumanjaka razred M imao statistički značajno veću vrijednost u odnosu na ostale ispitivane skupine. Usporedbom naših rezultata s navodima autora o pH vrijednosti tek snesenih jaja, možemo pretpostaviti da su analizirana jaja bila nekoliko dana u hladnjači na farmi.



Grafikon 1. Udjeli osnovnih dijelova jaja  
EkspONENTI <sup>a,b</sup> u grafikonu pokazatelji su statistički značajne razlike u udjelima između razreda jaja na razini  $P < 0,05$

Udjeli osnovnih dijelova jaja prikazani su na grafikonu 1 iz kojega je vidljivo da postoji statistički značajna razlika u udjelima ljuske, žumanjka i bjelanjka između ispitivanih razreda jaja ( $P < 0,05$ ). Najveći udio ljuske i žumanjka, a najmanji udio bjelanjka imala su jaja S razreda u odnosu na ostale ispitivane grupe. Shi i sur. (2009.) navode da se s povećanjem mase jaja statistički značajno ( $P < 0,001$ ) smanjuje udio žumanjka ( $S=24,00\%$ ;  $M=23,29\%$  i  $L=21,39\%$ ), dok su vrijednosti za udio bjelanjka kod jaja manje mase ( $S=61,46\%$ ) niži u odnosu na jaja veće mase ( $L=64,64\%$ ). Nihovi rezultati sukladni su našima.

### Zaključak

Istraživanje je pokazalo praktičnost i efikasnost u primjeni uređaja Nobel Digital Egg tester 6500, pri utvrđivanju pokazatelja kvalitete jaja. Iz rezultata provedenog istraživanja može se zaključiti da težinski razred jaja (S, M, L i XL) ima značajan utjecaj na pokazatelje kvalitete, osobito pokazatelje svježine. Razred jaja imao je značajan utjecaj na indeks oblika, masu jaja, visinu, širinu i indeks žumanjka, debljinu ljuske, pH bjelanjka i žumanjka, te udjele osnovnih dijelova ( $P < 0,05$ ), a nije utvrđen utjecaj na visinu bjelanjka, HJ, boju žumanjka i čvrstoću ljuske ( $P > 0,05$ ).

### Napomena

Istraživanje je financirano sredstvima Europskih strukturnih i investicijskih fondova dodijeljenim hrvatskom nacionalnom Znanstvenom centru izvrsnosti za personaliziranu brigu o zdravlju (KK.01.1.1.01.0010) i sredstvima Ministarstva znanosti i obrazovanja Republike Hrvatske.

## Literatura

- Anderson K. E., Tharrington J. B., Curtis P. A., Jones F. T. (2004). Shell characteristics of eggs from historic strains of single comb white leghorn chickens and relationship of egg shape to shell strength. *International Journal of Poultry Science*. 3 (1): 17-19.
- De Ketelaere B., Govaerts T., Coucke P., Dewil E., Visscher J., Decuypere E., De Baerdemaeker J. (2002). Measuring the eggshell strength of 6 different genetic strains of laying hens: Techniques and comparisons. *British Poultry Science*. 43 (2): 238-244.
- Fernandes J. I. M., Murakami A. E., Sakamoto M. I., Souza L. M. G., Malaguido A., Martins E. N. (2008). Effects of organic mineral dietary supplementation on production performance and egg quality of white layers. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 10: 59-65.
- Harms R. H., Rossi A. F., Sloan D. R., Milles R.D., Christmas R. B. (1990). A method for estimating shell weight and correcting specific gravity for egg weight in egg shell quality studies. *Poultry Science*. 69 (1): 48-52.
- Kralik G., Has-Shon E., Kralik D., Šperadna M. (2008). Peradarstvo biološki i zootehnički principi. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Grafika. 61-90.
- Shi S. R., Wang K.H., Dou T. C., Yang H. M. (2009). Egg weight affects some quality traits of chicken eggs. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 7 (2): 432-434.
- Silversides F. G., Villeneuve V. (1994). Is the Haugh Unit Correction for Egg Weight Valid for Eggs Stored at Room Temperature?. *Poultry science*. 73 (1): 50-55.
- Statistica Version 13.5.0.17 (1984-2018 TIBCO® Statistica™ Inc)  
<http://www.tisup.mps.hr/Arhiva.aspx?id=37> (pristupljeno 27.10.2020.)  
[https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2006\\_10\\_115\\_2561.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2006_10_115_2561.html) (pris. 27.10.2020.)  
[https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2018/SI-1632.pdf](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2018/SI-1632.pdf) (pristupljeno 27.10.2020.)

## Influence of table eggs' weight classes on quality indicators

### Abstract

The aim of the study was to determine the influence of egg grade on quality indicators. Egg quality research was performed on a total of 120 eggs, originating from Tetra SL hens kept in enriched cages and fed with commercial feed for laying hens balanced on 17.6% protein and 11.84 MJ ME/kg of feed. Collected eggs were divided into 4 classes according to weight S (<53 g), M (53-63 g) L (63-73 g) and XL (>73 g). Egg quality indicators were determined with the Nobel Digital Egg Tester 6500, while the pH value of egg yolks and albumens was determined with a pH meter. The length and width of the eggs were determined by a movable measure, the mass of the basic parts by a scale, and the values were used to calculate the shape index and the proportion of the basic parts in the egg. The study found that the egg class has an impact on the shape index, weight, length and width of the egg, yolk index, shell thickness, pH of the albumen and yolk, and the proportions of the basic parts ( $P < 0.05$ ); and has no effect on albumen height, HU, yolk color, and shell strength ( $P > 0.05$ ).

**Key words:** egg quality, eggs weight classes, DET 6500

## Pokazatelji kvalitete jaja križevačke kukmaste kokoši

Marija Meštrović, Marijana Vrbančić Igrić, Tatjana Jelen, Damir Alagić, Leon Bogatirov

*Visoko gospodarsko učilište u Križevcima, M. Demerca 1, 48260 Križevci, Hrvatska  
(mmestrovic@vguk.hr)*

### Sažetak

Cilj istraživanja bio je usporediti i analizirati fizikalne pokazatelje kvalitete jaja križevačke kukmaste kokoši na tri gospodarstva (Mišir, Flajpan, Hrg) i na VGUK. Istraživanje je provedeno na ukupno 36 jaja. U radu su analizirani sljedeći pokazatelji kvalitete jaja: masa jaja, masa bjelanjka, masa žumanjka, masa ljuske, dužina i širina jaja, indeks oblika, debljina ljuske, boja žumanjka, pH bjelanjka i pH žumanjka. Razlike u praćenim parametrima kvalitete jaja u malim su odstupanjima između navedenih gospodarstva, a kako do sada nema rezultata vezanih za kvalitetu jaja ove pasmine, potrebno je provesti daljnja istraživanja po ciklusima nesenja i na većem broju uzoraka.

**Ključne riječi:** jaja, križevačka kukmasta kokoš, vanjski i unutarnji pokazatelji kvalitete jaja

### Uvod

Prema Posavi i sur. (2004.) i Pintiće i sur. (2008.) križevačka kukmasta kokoš nastala je u osamdesetim godinama 20. stoljeća selekcijskim radom na domaćim kokošima uzgajanim u Kalničkom prigorju, nastala oplemenjivačkim radom uzgajivača Josipa i Katice Vojte iz Križevaca. Osnova uzgojnoga rada bile su odabrane domaće kokoši uzgajane u okolici Križevaca, koje je karakterizirala osrednja kukmica, srednje krupno tijelo sa dvojnim proizvodnim osobinama, za meso i jaja, te dobrom otpornošću koje su planski križane s pijetlovima orpington pasmine. Uzgojni cilj bio je stvoriti atraktivnu izložbenu kokoš koja će zadržati proizvodna svojstva i otpornost domaće kokoši toga kraja. Prema proizvodnim svojstvima spada u srednje-teške pasmine. Masa pijetlova je oko 4 kg, a kokoši od 2,5 do 3 kg. Odlikuje se bijelom kožom te sočnim i vrlo ukusnim mesom. Ima srednje fini kostur. Pilići križevačke kukmice brzo rastu i brzo operjavaju. Kokice pronešu sa 6 - 7 mjeseci starosti i snesu godišnje 150 - 170 jaja, prosječne mase do 60 g. Nadalje su rezultate o tjelesnim i gospodarskim odlikama križevačke kukmaste kokoši iznesli Pintiće i sur. (2010.) koji navode da je ova pasmina kokoši prilagođena dvojakom načinu uzgoja, slobodnom potpuno ekstenzivnom načinu i kombiniranom tj. s ograničenom mogućnosti kretanja. Meštrović i sur. (2015.) proveli su istraživanje o njihovim fenotipskim i proizvodnim karakteristikama s ciljem utvrđivanja vrijednosti tjelesnih mjera kokoši i pijetlova. Kako do sada nema podataka o kakvoći jaja ove pasmine, cilj ovoga istraživanja je prikazati neke vanjske i unutarnje pokazatelje kvalitete jaja. Općenito, jaja možemo definirati kao visokokvalitetne prehrambene proizvode s visokom hranidbenom vrijednošću, a kvaliteta jaja je vrlo širok pojam zbog niza fizikalno-kemijskih pokazatelja koji mogu biti vanjski i unutarnji. Vanjski pokazatelji kvalitete jaja su masa jaja, oblik i kvaliteta ljuske (čvrstoća i debljina ljuske), dok su unutarnji pokazatelji indeks žumanjka i bjelanjka, pH vrijednost, stupanj starenja, vrijednosni broj, analiza osnovnih kemijskih sastojaka, veličina zračne komorice i drugi (Kralik i sur., 2008.). Kralik i Ljuboja (2017.) u svome istraživanju navode kako se masa kokošnjih jaja kreće između 51 i 59 g. Bedeković i sur. (2019.) navode kako je prosječna masa jaja kokoši hrvatice 51 g. Na debljinu i čvrstoću ljuske utječe nasljedna osnova, vanjski čimbenici te razina mineralnih tvari u obroku. Smatra se da bi debljina ljuske jaja trebala biti od 0,34 do 0,35 mm (Senčić, 1994.). Bedeković i sur. (2019.) u svom istraživanju navode kako je debljina ljuske u kokoši

hrvatice iznosila 0,35 mm. Vrijednost pH svježeg žumanjka je pH=6,0, dok je za svježi bjelanjak vrijednost pH=7,6. Samli i sur. (2005.) navode da je vrijednost svježeg bjelanjka 7,47, a žumanjka 5,75 dok kod jaja čuvanih 2 dana na temperaturi od 5 °C pH bjelanjka iznosi 7,99, a žumanjka 5,9. Indeks oblika važan je parametar ocjene kvalitete jer su oštećenja ljuske svedena na minimum. Jaje je asimetričnog, eliptičnog oblika čiji indeks oblika iznosi u prosjeku 74 %, a može se kretati u rasponu od 68 % do 86 % (Kralik i sur., 2011.). Nikolova i Kocevski (2006.) navode da jaja s indeksom 72 % imaju duguljast, a s indeksom 76 % okruglast oblik. Boja žumanjka ovisi o količini pigmenata, osobito karotina (provitamin A) u hrani (Senčić i Samac, 2019.). Kralik i Ljuboja (2017.) navode da se boja žumanjka kod kokošnjih jaja kreće između 9 i 14. Prema Pravilniku o kakvoći jaja (N.N. 115/06, N.N. 76/09.), jaja se klasiraju na jaja „A“ klase ili svježa jaja i na jaja „B“ klase koja su namijenjena industrijskoj preradi. Prema istom pravilniku jaja se prema masi razvrstavaju u 4 razreda: XL (veća od 73 g), L (63 - 73 g), M (53 - 63 g) te S (manja od 53 g).

### Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na ukupno 36 jaja (9 na svakom gospodarstvu) s tri poljoprivredna gospodarstva iz okolice Križevaca, te s Visokog gospodarskog učilišta u Križevcima. Jaja su analizirana 2 dana nakon skupljanja, do kada su bila u hladnjaku na +4 °C. Na sva četiri proizvodna mjesta kokoši su držane podno u čvrstim objektima s pripadajućim ispustima. Hranjene su krmnom smjesom sa 16 % sirovih bjelančevina. U radu su analizirani sljedeći fizikalni pokazatelji kvalitete jaja: masa jaja, masa bjelanjka, masa žumanjka, masa ljuske, dužina jaja, širina jaja, indeks oblika, debljina ljuske, boja žumanjka, pH bjelanjka i pH žumanjka. Masa jaja i osnovnih dijelova (bjelanjak, žumanjak, ljuska) utvrđena je pomoću vage PB 1502-S proizvođača Mettler Toledo. Pomičnim digitalnim mjerilom (šublerom) proizvođača Topex.pl izmjerena je debljina ljuske. Indeks oblika izračunat je iz mjera širine i dužine jaja prema obrascu: indeks oblika (%) = širina jajeta/dužina jajeta\*100 (Panda, 1996.). Boja žumanjka određena je pomoću lepeze Roche (Yolk Colour Fan) s numeracijom brojeva od 1 do 15. Vrijednosti pH bjelanjka i žumanjka izmjerene su pH metrom MP 120 proizvođača Mettler Toledo. Podaci su obrađeni pomoću paketa MS Office i u statističkom programu Statistica Version 13.4.0.14 (StatSoft, Inc 1984-2018) korištenjem GLM postupka, a u analizi utjecaja korišten je ANOVA multivarijantni linearni model. Značajnost razlika procijenjena je uporabom studentovog t-testa.

### Rezultati i rasprava

U Tablici .1 prikazani su unutarnji i vanjski pokazatelji kvalitete jaja kokoši križevačke kukmice s tri poljoprivredna gospodarstva iz okolice Križevaca, te s Visokog gospodarskog učilišta u Križevcima. Prosječna vrijednost mase jaja po gospodarstvima Mišir, Flajpan, Hrg, i VGUK iznosila je 60,05 g, 49,79 g, 54,00 g i 52,12 g. Prema Pravilniku o kakvoći jaja (N.N. 115/06.; N.N. 76/09.) jaja se prema masi razvrstavaju u 4 razreda: XL (veća od 73 g), L (63 - 73 g), M (53 - 63 g) te S (manja od 53 g). Iz navedenog, vidljivo je da jaja s gospodarstva Mišir i Hrg mogu biti razvrstana u M razred, a jaja s ostalih gospodarstva u S razred. U usporedbi s fizikalnim pokazateljima kakvoće jaja kokoši hrvatice (Bedeković i sur., 2019.) vidljivo je kako je prosječna vrijednost mase jaja na gospodarskom gospodarstvu Mišir i Hrg veća nego u kokoši hrvatica (51 g), dok su prosječne vrijednosti mase jaja na ostalim gospodarstvima slične vrijednostima kokoši hrvatice. Dobiveni rezultati pokazuju da je masa jaja kukmaste kokoši u skladu s istraživanjem Kralik i Ljuboje (2017.). Značajno najveća prosječna vrijednost mase jaja (60,05 g) zabilježena je na gospodarstvu Mišir (P<0,05). Na navedenom gospodarstvu zabilježena je i najveća prosječna vrijednost mase bjelanjaka (31,45 g), žumanjaka (19,98 g) i ljuske (8,10 g). Najmanje vrijednosti za masu jaja (49,79 g), bjelanjaka (25,99 g), žumanjka (17,25 g) i ljuske (5,59 g) izmjerene su na gospodarstvu Flajpan.

Tablica 1. Usporedba pokazatelja kvalitete jaja na gospodarstvima

Gospodarstvo	M	F	H	U
	Pokazatelji			
Masa jaja (g)	60,05±3,29 <sup>a</sup>	49,79±1,96 <sup>b</sup>	54,00±4,35 <sup>c</sup>	52,12±4,61 <sup>bc</sup>
Masa bjelanjka (g)	31,45±2,42 <sup>a</sup>	25,99±1,07 <sup>b</sup>	29,90±3,47 <sup>ac</sup>	26,23±3,85 <sup>bc</sup>
Masa žumanjka (g)	19,98±1,24 <sup>a</sup>	17,25±1,19 <sup>b</sup>	17,70±1,88 <sup>b</sup>	17,67±2,29 <sup>b</sup>
Masa ljuske (g)	8,10±1,19 <sup>a</sup>	5,59±0,48 <sup>b</sup>	6,96±0,83 <sup>c</sup>	7,02±0,66 <sup>c</sup>
Dužina jaja (mm)	57,69±2,07 <sup>a</sup>	55,21±1,43 <sup>b</sup>	54,53±2,77 <sup>b</sup>	54,97±1,45 <sup>b</sup>
Širina jaja (mm)	43,68±1,02 <sup>a</sup>	40,36±0,59 <sup>b</sup>	41,81±0,75 <sup>c</sup>	40,78±1,47 <sup>b</sup>
Indeks oblika (%)	75,79±3,20 <sup>ab</sup>	73,13±1,66 <sup>c</sup>	76,81±3,23 <sup>b</sup>	74,20±2,20 <sup>ac</sup>
Debljina ljuske (mm)	0,36±0,31 <sup>a</sup>	0,34±0,29 <sup>a</sup>	0,41±0,36 <sup>a</sup>	0,59±0,55 <sup>a</sup>
Boja žumanjka (La Roche lepeza)	12,89±0,78 <sup>a</sup>	13,38±0,70 <sup>a</sup>	13,38±0,70 <sup>a</sup>	11,67±1,00 <sup>b</sup>
pH bjelanjak	9,02±0,23 <sup>a</sup>	9,07 ±0,06 <sup>a</sup>	9,0±0,16 <sup>a</sup>	8,93±0,17 <sup>a</sup>
pH žumanjak	6,94±0,77 <sup>a</sup>	6,48±0,39 <sup>a</sup>	6,51±0,4 <sup>a</sup>	6,63±0,90 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup>Vrijednosti u istom redu tablice označene različitim slovima značajno se razlikuju,  $P < 0,05$ ; M – gospodarstvo Mišir, F – gospodarstvo Flajpan, H – gospodarstvo Hrg, U – VGUK

Na temelju dužine i širine jaja izračunat je indeks oblika jaja kao važan parametar prilikom ocjenjivanja kvalitete jaja jer ukoliko su jaja pravilnijeg oblika, oštećenja ljuske jajeta biti će svedena na minimum (Vrbančić i Nervo, 2017.). Indeks oblika jaja po navedenim gospodarstvima kretao se od 73,13 % do 76,81 %. Najveća vrijednost za indeks oblika izračunata je na gospodarstvu Hrg, a najmanja na gospodarstvu Flajpan. Bedeković i sur. (2019.) u svom istraživanju navode da indeks oblika kod kokoši hrvatice iznosi 74 % što je slično našem istraživanju. Nikolova i Kocevski (2006.) navode da jaja s indeksom 72 % imaju duguljast, a s indeksom 76 % okruglast oblik, stoga jaja iz ovog istraživanja možemo svrstati u skupinu jaja okruglastog oblika, izuzev jaja na gospodarstvu Flajpan.

Debljina ljuske je važno svojstvo o kojem ovisi normalan transport jaja i manipuliranje s njima. Smatra se da bi debljina ljuska jaja trebala biti od 0,34 do 0,35 mm (Senčić, 1994.). Rezultati pokazuju kako se prosječna debljina ljuske kukmaste kokoši kretala od 0,34 mm (gospodarstvo Flajpan) do 0,59 mm (VGUK). Međutim, ne postoji značajna razlika za ovo svojstvo između gospodarstava. Debljina ljuske jajeta kukmaste kokoši razlikuje od debljine ljuske jajeta prema istraživanju Senčića (2006.). Bedeković i sur. (2019.) u svom istraživanju navode kako je debljina ljuske u kokoši hrvatice iznosila 0,35 mm. Koeficijent varijabilnosti za debljinu ljuske pokazuje kako su pojedinačne vrijednosti manje grupirane oko prosječne vrijednosti. Prosječna boja žumanjka prema lepezi La Roche iznosila je (Mišir, Flajpan, Hrg, VGUK) 12,89; 13,38; 13,38 i 11,67, a u kokoši hrvatica 10 (Bedeković i sur., 2019.). Rezultati našeg istraživanja u skladu su s rezultatima istraživanja Kralik i Ljuboje (2017.) koji navode kako se boja žumanjka kod kokoši kreće od 9 do 14. Prosječno najveća vrijednost boje žumanjka (13,38) zabilježena je na gospodarstvima Flajpan i Hrg, a značajno najmanja (11,67) na VGUK. Boja žumanjka na gospodarstvu Mišir nije se značajno razlikovala u odnosu na gospodarstva Flajpan i Hrg.

Prosječna vrijednost pH bjelanjka je najveća (9,07) na gospodarstvu Flajpan dok je pH žumanjka najveći (6,94) na gospodarstvu Mišir. Najmanja vrijednost pH bjelanjka (8,93) je na gospodarstvu Hrg, dok je najmanja pH vrijednost žumanjka (6,48) na gospodarstvu Flajpan. Vrijednosti pH bjelanjka i žumanjka nisu se značajno razlikovale po navedenim gospodarstvima. Slične vrijednosti za pH bjelanjka i žumanjka kokošnjih jaja navode i Kralik i Ljuboja (2017.).

## Zaključak

Temeljem provedenog istraživanja kvalitete jaja križevačke kukmaste kokoši u 2020. godini rezultati su pokazali da je značajno najveća prosječna masa jajeta (60,05 g) bila na gospodarstvu Mišir, a najmanja (49,79 g) na gospodarstvu Flajpan. Prema Pravilniku o kakvoći jaja deklariranih po razredima, jaja na gospodarstvu Mišir i Hrg pripadaju M razredu, a jaja na gospodarstvu Flajpan i VGUK S razredu. Najveća prosječna vrijednost indeksa oblika (76,81 %) zabilježena je na gospodarstvu Hrg, a najmanja (73,13 %) na gospodarstvu Flajpan. Najveća prosječna vrijednost debljine ljuske (0,59 mm) izmjerena je na VGUK, a najmanja prosječna vrijednost debljine ljuske (0,34 mm) bila je na gospodarstvu Flajpan, međutim razlika u debljini ljuske nije značajna. Boja žumanjka kretala se između 10 i 14. Prosječne vrijednosti pH bjelanjka i pH žumanjka nisu se značajno razlikovale između gospodarstva. Razlike u praćenim pokazateljima kvalitete jaja u malim su odstupanjima između istraživanih gospodarstva. Kako do sada nema rezultata vezanih za kvalitetu jaja ove pasmine, može se zaključiti da je potrebno i dalje provoditi ovakva istraživanja, odnosno, potrebno je provesti istraživanje kvalitete jaja po ciklusima nesjenja i na većim uzorcima.

## Napomena

Istraživanja za ovaj rad dio su trogodišnjeg projekta „Zaštita križevačke kukmaste kokoši“ kojeg financira Koprivničko-križevačka županija, a u svrhu priznavanja pasmine kao autohtone. Naredne dvije godine provodit će se istraživanje po ciklusima nesjenja i na većim uzorcima.

## Literatura

- Bedeković D., Janječić Z., Kos I., Duvnjak G., Šabić P., Rogošić A. (2019). Tehnologija uzgoja kokoši hrvaticice. Priručnik. VIP-projekt. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.
- Kralik, G. Adamek, Z., Baban, M., Bogut, I., Gantner, V., Ivanković, S., Katavić, I., Kralik, D., Kralik, I., Margeta, V., Pavličević, V. (2011.). Zootehnika. Sveučilišni udžbenik; Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište u Mostaru, University of south bohemia in Česke Budejovice. Grafika d.o.o., Osijek.
- Kralik, G., Has-Schön, D., Šperanda, M (2008.). Peradarstvo biološki i tehnički principi. Sveučilišni udžbenik; Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Grafika d.o.o. Osijek.
- Kralik, Z., Ljuboja, B. (2017.). Kvaliteta jaja različitih vrsta peradi. *Zbornik radova 52. hrvatskog i 12. međunarodnog simpozij agronoma*. Vila, Sonja; Antunović, Zvonko (ur.). Dubrovnik, Hrvatska, 12.-17.02.2017. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. 534-538.
- Meštrović M., Janječić Z., Bedeković D., Duvnjak G. (2015). Fenotipska obilježja križevačke kukmaste kokoši. *Zbornik radova XI. Simpozija „Peradarski dani 2015“*, Balenović, Mirta (ur.), Šibenik, Hrvatska, 13.-16. svibnja 2015. Hrvatski veterinarski institut, Centar za peradarstvo, Zagreb, 125-128.
- Nikolova N., Kocevski D. (2006). Forming egg shape indeks as influenced by ambient temperatures and age hens. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 22 (1-2): 119-125.
- Panda P. C. (1996.): Shape and Texture. In: *Textbook on Egg and Poultry Technology*. First Edition, New Delhi, India.
- Pintić V., Meštrović M., Jelen T., Marenčić D., Pintić-Pukec N. (2010). Tjelesne i gospodarske odlike križevačke kukmice. *Zbornik sažetaka 2. Konferencije o izvornim pasminama i sortama kao dijelu prirodne i kulturne baštine s međunarodnim sudjelovanjem*. Davorin Marković, Jasna Jeremić (eds.), Poreč, Hrvatska, 22-24.09.2010.
- Pintić V., Pintić-Pukec N., Poljak F., Vojta K., Meštrović M., Flajpan S., Mihalić Z. (2008) Križevačka kukmica, *Stočarstvo*. 62 (1): 55-57, Zagreb.
- Posavi M., Ozimec R., Ernoić M., Poljak F. (2004). Enciklopedija hrvatskih domaćih životinja, Katarina Zrinski, Varaždin.



- Pravilnik o kakvoći jaja, N.N. 115/06., N.N. 76/08.
- Samac, D., Senčić, Đ. (2017.): Jaja. Poljoprivredni fakultet Osijek, Grafika d.o.o. Osijek. str.15-98.
- Samli H.E., Agma A., Senkoylu N. (2005). Effects of Storage Time and Temperature on Egg Quality in Old Laying Hens. *J. Appl. Poult. Res.* 14: 548-553.
- Senčić Đ. (1994): Peradarstvo. *Gospodarski list*, Zagreb.
- Senčić Đ., Butko D. (2006). Proizvodnost nesilica i kvaliteta kokošnjih jaja iz slobodnog i kaveznog sustava držanja. *Poljoprivreda*.12 (2): 48-51.
- Vrbančić, M., Nervo, V. (2017). Kvaliteta jaja pataka indijskih trkačica. 52. *Hrvatski i 12. međunarodni simpozij agronoma*. Vila S.; Antunović Z. (ur.). Dubrovnik, Hrvatska, 12.-17.02.2017. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. 585-588.

## Egg quality indicators of “Križevci crested hen”

### Abstract

Aim of this research was to compare and analyse physical indicators of Križevci crested hen egg quality in three husbandries (Misir, Flajpan and Hrg) and at College of Agriculture in Križevci. The study was conducted on a total of 36 eggs. The paper analyzes the following egg quality indicators: egg mass, egg white mass, egg yolk mass, shell mass, egg length and width, shape indices, shell thickness, egg yolk color, egg white pH and egg yolk pH. Differences in researched parameters show small aberration between mentioned husbandries and as so far there are no results related to the quality of eggs of this breed, it is necessary to investigate the study by laying cycles and in a larger number of samples.

**Key words:** eggs, Križevci crested hen, external and internal indicators of egg quality

## Klaonički pokazatelji i odlike trupa istarske ovce

Boro Mioč<sup>1</sup>, Zvonko Antunović<sup>2</sup>, Ivan Širić<sup>1</sup>, Ante Kasap<sup>1</sup>, Ana Kaić<sup>1</sup>, Josip Novoselec<sup>2</sup>, Željka Klir Šalavardić<sup>2</sup>, Gordan Šubara<sup>3</sup>, Valentino Držaić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (bmio@agr.hr)

<sup>2</sup>Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>AZRRI- Agencija za ruralni razvoj Istre, Ulica prof. Tugomila Ujčića 1, 52000 Pazin, Hrvatska

### Sažetak

Cilj je predmetnog istraživanja bio utvrditi klaoničke pokazatelje, mjere razvijenosti trupa, boju i pH-vrijednost mišićnog tkiva trupova istarske ovce. U tu je svrhu zaklano 31 grlo, a trupovi su podvrgnuti standardnim postupcima obrade. Neposredno nakon klanja i klaoničke obrade obavljena su mjerenja trupova, određivanje boje mesa i pH-vrijednosti (pH<sub>45</sub>). Prosječna je tjelesna masa ovaca neposredno prije klanja bila 59,34 kg, masa trupa 30,44 kg, randman 50,66 % i pH<sub>45</sub> 6,09. Trup istarske ovce poprilično je dug (83,02 cm) i dubok u prsnom dijelu (34,47 cm), što je bilo i očekivano jer su to važne pasminske odlike. Po klaoničkim se pokazateljima može zaključiti da istarska ovca ima određeni potencijal i za proizvodnju mesa.

**Ključne riječi:** istarska ovca, klaonički pokazatelji, boja i pH-vrijednost mesa

### Uvod

Općenito je meso najvažniji izvor bjelančevina za ljudsku prehranu (McAfee i sur., 2010.) i najvažniji proizvod ovaca u svijetu i Hrvatskoj. Navedeno se primarno odnosi na janjetinu te znatno manje na ovčetinu. U Hrvatskoj nema sustavnog otkupa te klanja odraslih (starijih) kategorija ovaca i ovnomu pa uzgajivači najčešće izlučena grla kolju za potrebe domaćinstva i proizvodnju sušene ovčetine (kaštradine, pastrme ili stelje). Iz navedenog se može zaključiti da je konzumacija ovčjeg mesa u Hrvatskoj vrlo mala i sezonska, što nije rijetkost u državama europskog i američkog kontinenta (Hervé, 2013.). Kvaliteta je mesa pod utjecajem brojnih čimbenika (de Lima Júnior i sur., 2016.). Masa toplog i hladnog trupa važan su kriterij za procjenu kvalitete trupa jer izravno utječe na druge pokazatelje: konformaciju trupa i udio pojedinih tkiva u trupu (Lambbe i sur., 2009.). Konformacija je trupa opći pokazatelj njegove kvalitete koja obuhvaća vizualnu procjenu i objektivna mjerenja kao što su širina i dubina prsnog koša, duljina nogu, širina križa i dr. (Diaz, 2001.). Nerijetko proizvođači mesa, mesna industrija i potrošači imaju različito poimanje i pristup pokazateljima kvalitete mesa. Proizvođači i industrija vode se objektivnim pokazateljima kao što su odlike trupa (Becker, 2000.), dok su kriteriji potrošača više subjektivni, npr. udio masti u trupu, boja, mekoća i okus mesa (Sepúlveda i sur., 2011.). Međutim, svi u tom lancu moraju osigurati kvalitetu kako bi poboljšali konkurentnost proizvoda (Ramirez-Retamal i Morales, 2014.). Utvrđeno je da dob i spol (Barone i sur., 2007.), pasmina (Kremer i sur., 2004.), količina i vrsta hrane (Jacques i sur., 2011.) utječu na odlike trupa (masu, konformaciju, udio masnoće) i mesa (pH-vrijednost, boju, teksturu i prehrambenu vrijednost). Imajući u vidu navedeno, cilj je predmetnog istraživanja bio utvrditi klaoničke pokazatelje, razvijenost trupa, boju i pH-vrijednost mesa istarske ovce.

## Materijal i metode

Klanje i klaonička obrada ovaca obavljani su u ovlaštenoj klaonici Trgolorenc u Istri. Prosječna je dob istraživanjem obuhvaćenih grla bila 54 mjeseca. Nakon dopreme u klaonicu te 12-satnog posta i odmora ovce su pojedinačno izvagane te usmjerene na liniju klanja. Klanje i klaonička obrada obavljani su prema važećim standardnim postupcima obrade (Fisher i de Boer, 1994.). Klasična metoda obrade za ovce uključuje iskrvarenje obostranim presijecanjem vratnih vena (*v. jugularis externa*) i karotidnih arterija (*a. carotis communis*), odvajanje kože s donjim dijelovima nogu (odrezanih u karpalnom te tarzalnom zglobu), vađenje iznutrica (probavnog sustava, jetre, pluća, srca i slezene). Glava je odvojena zajedno s kožom i rogovima i nije bila sastavni dio trupa. Neposredno nakon klanja obavljena su pojedinačna vaganja kože s donjim dijelovima nogu, glave s kožom i rogovima, predželudaca, želuca i crijeva, pluća sa srcem i ždrijelom, jetre te slezene. Neposredno nakon klanja klaonički obrađeni trupovi su izvagani (klaonička masa), a na temelju dobivenih podataka izračunat je topli randman. Ionometrijski status mišića (pH-vrijednost) izmjerena je na svim trupovima ubodnom elektrodom (Schott BlueLine 21pH) pomoću prijenosnog pH-metra IQ 150 (IQ Scientific Instruments, USA). Vrijednost pH izmjerena je 45 minuta *post mortem* (pH<sub>45</sub>) u dugom leđnom mišiću (*m. longissimus dorsi* - MLD) u visini između 12. i 13. rebra. Boja mesa određivana je na mišićnoj regiji *m. longissimus dorsi* (MLD), *m. rectus abdominis* (MRA) i *m. semitendinosus* (MS). Pokazatelji boje mesa izmjereni su s pomoću Minolta kolorimetra (Konica Minolta Chroma Meter CR 400, Osaka, Japan) s 50 mm dijametarskim područjem mjerenja i spektrom boja L\* a\* b\* uz standardnu iluminaciju za meso D-65. Dobiveni podatci statistički su obrađeni primjenom statističkog programa SAS 9.4 (SAS 2019.).

## Rezultati i rasprava

Na kvalitetu trupa i mesa najveći utjecaj imaju pasmina i hranidba. Pasma utječe na masu, prinos i konformaciju trupa, pH-vrijednost i sastav masnih kiselina mesa, dok hranidba utječe na konformaciju trupa te sastav masnih kiselina, mekoću i boju mesa. Prosječna je tjelesna masa istarskih ovaca pri klanju bila 59,34 kg, masa toplog trupa 30,44 kg i randman 50,66 % te se sudeći po navedenim pokazateljima istarsku ovcu može uspješno koristiti i za proizvodnju mesa. Tjelesna masa grla istarske ovce neposredno prije klanja, masa toplog trupa i drugih klaoničkih pokazatelja prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Opisna statistika klaoničkih pokazatelja istarske ovce

Pokazatelj	N	$\bar{x}$	Min.	Max.	Std. Dev.	CV (%)
Masa prije klanja (kg)	31	59,34	38,17	83,41	11,24	18,94
Masa trupa (kg)	31	30,44	16,50	46,10	7,89	25,92
Randman (%)	31	50,66	42,68	58,69	4,49	8,86
Želudac i crijeva (kg)	31	14,38	9,78	21,36	2,71	18,87
Pluća i srce (kg)	31	1,91	1,36	3,62	0,46	24,35
Jetra (kg)	31	1,19	0,68	1,68	0,22	18,38
Slezena (g)	31	208,32	145,00	335,00	45,57	21,87
Koža i noge (kg)	31	7,74	5,78	10,14	0,97	12,51
Glava s kožom (kg)	31	3,46	2,32	4,30	0,50	14,58

N – broj ovaca;  $\bar{x}$  – aritmetička srednja vrijednost; Min. – najmanja vrijednost; Max. – najveća vrijednost; Std. Dev. – standardna devijacija; CV – koeficijent varijabilnosti

Navedene prosječne vrijednosti tjelesne mase pri klanju i mase toplog trupa istarske ovce manje su od onih utvrđenih u travničke pramenke, dok je topli randman bio veći (Mioč i sur., 2011.). Prosječna je tjelesna masa istarskih ovaca pri klanju znatno veća od one utvrđene u

Santa Inês ovaca u Brazilu zaklanih u dobi od 6 godina, kao i masa trupa (Constantino i sur., 2014.). Glavni kriteriji koji se koriste za procjenu kvalitete trupa su masa toplog i masa hladnog trupa, jer oni utječu na druge važne pokazatelje kao što su sadržaj masti, konformacija trupa i masa pojedinih rezova (Lambe i sur., 2009.). Udio masti na/u trupu utječe na kvalitetu i cijenu trupa i mesa.

Tablica 2. Opisna statistika klaonički obrađenih trupova istarske ovce

Pokazatelj (cm)	N	$\bar{x}$	Min.	Max.	Std. Dev.	CV (%)
Dužina trupa	31	83,02	75,50	91,00	4,06	4,89
Dubina prsa	31	34,47	30,50	38,50	1,86	5,39
Dužina stražnje noge	31	32,04	27,60	36,20	1,73	5,39
Širina prsa	31	18,01	15,00	20,80	1,38	7,66
Širina zdjelice	31	21,62	18,50	23,80	1,19	5,49

Trup je istarske ovce znatno kraći od onog travničke pramenke (83,02 : 86,28 cm), ali i neznatno dublji (34,47 : 33,87 cm) u prsnom dijelu (Mioč i sur., 2011.). Sve mjere trupa istarske ovce veće su od onih utvrđenih u tripivima Santa Inês ovaca u Brazilu zaklanih pri sličnoj dobi (Constantino i sur., 2014.). Poznato je da *post mortem* mora doći do brojnih biokemijskih procesa i promjena na staničnoj razini kako bi se mišići „pretvorili“ u meso (Pearce i sur., 2011.). Važna faza u tom procesu je *rigor mortis*, zajedno s promjenama na razini mišićnih miofibrila (Pearce i sur., 2011.). Trebaju se sniziti razine ATP-a i glikogena kako bi se smanjila pH-vrijednost mesa (Ouali i sur., 2006.).

Tablica 3. Opisna statistika pH vrijednosti i boje mesa istarske ovce

Mišićna regija	Pokazatelj	N	$\bar{x}$	Min.	Max.	Std. Dev.	CV (%)
MLD	pH <sub>45</sub>	31	6,09	5,45	6,62	0,29	4,92
	L*	31	32,49	28,94	44,30	3,17	9,77
	a*	31	18,32	14,59	23,99	2,11	11,54
	b*	31	2,73	0,82	6,91	1,30	47,63
MRA	L*	31	44,19	40,32	49,65	2,60	5,88
	a*	31	18,28	12,36	23,12	2,47	13,53
	b*	31	-1,97	-5,43	2,85	1,80	-91,24
MS	L*	31	36,09	30,33	43,81	2,60	7,19
	a*	31	18,29	6,35	22,59	3,25	17,75
	b*	31	2,74	-0,32	4,78	1,27	46,39

Tejeda i sur. (2008.) tvrde da je kakvoća janječeg (ovčjeg) mesa i njegova prihvaćenost od potrošača prvenstveno određena fizikalno-kemijskim odlikama, ponajprije bojom i masno-kiselinskim sastavom. Boja je mesa važan pokazatelj kvalitete koja je najviše pod utjecajem dobi, fizičke aktivnosti, hranidbe i dr. Stoga se, kako bi se „odgodila“ oksidacija i zadržala poželjna boja mesa koriste različiti antioksidansi, ponajviše vitamin E (Macit i sur., 2003.). Međutim, potrošači preferiraju prirodne preparate pa je u posljednje vrijeme sve veći interes za uporabom biljaka bogatih antioksidansima i njihovo dodavanje u obrok s ciljem povećanja roka trajanja mesa (Luciano i sur., 2013.). Utvrđene vrijednosti boje mesa L\* i a\* slične su onima koje navode Constantino i sur. (2014.), dok su vrijednosti b\* pokazatelja bile znatno više. Općenito je meso starijih zaklanih grla (ovčetina) znatno tamnije od janječeg mesa. Više je pokazatelja za utvrđivanje kvalitete mesa, a pH-vrijednost je među najvažnijima (Weglarz, 2010.), s obzirom da abnormalne vrijednosti mogu utjecati na

kvalitetu mesa, osobito na boju i nježnost (Mounier i sur., 2006.). Nakon klanja, uslijed brojnih *post mortem* promjena u mišićima životinja dolazi do postupne promjene pH-vrijednosti sa 7,0 - 7,2 (mišići žive životinje) na 5,3 - 5,8 (završna pH-vrijednost). Do snižavanja pH vrijednosti dolazi uslijed stvaranja mliječne kiseline iz pričuvnog polisaharida glikogena tijekom anaerobne glikogenolize. Brzina odvijanja glikogenolize razlikuje se ponajprije između vrsta životinja, pasmina te između pojedinih grla unutar iste pasmine. Završna pH-vrijednost janječeg mesa je od 5,5 do 5,9 (Perlo i sur, 2008.). Preporučuje se pH-vrijednost mesa 24 sata nakon klanja od 5,8 ili niže (Tejeda i sur., 2008.).

### Zaključak

U Hrvatskoj nema sustavnog otkupa i klanja odraslih muških i ženskih grla ovaca i često je problem plasmana škartiranih grla. Posljedično tome na tržišti nema niti ponude ovčjeg mesa (ovčetine), ili je ona izrazito rijetka. Agencija za ruralni razvoj Istre (AZRI) nastoji pronaći rješenja koja bi zadovoljila potrebe i želje potrošača i ujedno omogućila uzgajivačima sustavan otkup izlučenih grla. Iz ovih je pokusnih klanja, sukladno utvrđenim rezultatima, razvidan potencijal istarske ovce i u proizvodnji mesa koji se ponajviše temelji na relativno dobro razvijenim trupovima.

### Literatura

- Becker T. (2000). Consumer perception of fresh meat quality: a framework for analysis. *British Food Journal*. 102: 158-176.
- Barone C., Colatruglio P., Girolami A., Matassino D., Zullo A. (2007). Genetic type, sex, age at slaughter and feeding system effects on carcass and cut composition in lambs. *Livestock Science*. 112: 133-142.
- Constantino C., de Azambuja Ribeiro E. L., Bridi A. M., Tarsitano M. A., Boscaro de Castro F. A., de Castro, Júnior F. F., Yurika I., Mizubuti I., Sales Pereira M. E. (2014.). Performance, carcass and meat quality of ewes supplemented with magnesium oxide. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 43: 27-35.
- de Lima Júnior D. M., de Carvalho F. F. R., da Silva F. J. S., Rangel A. H. N., Luciano P Novaes L. P., Gelson dos Difante, G.S. (2016). Intrinsic factors affecting sheep meat quality: a review. *Revista Colombiana de Ciencias Pesuarias*. 29: 3-15.
- Díaz M. (2001). Características de la canal y de la carne de corderos lechales manchegos. Correlaciones y ecuaciones de predicción. Tesis PhD. Universidad Complutense de Madrid, Facultad Veterinaria, Madrid, España.
- Fisher A. V., de Boer H. (1994). The EAAP standard method of sheep carcass assessment. Carcass measurements and dissection procedures, Report of the EAAP Working Group on Carcass Evaluation, in cooperation with the CIHEAM Instituto Agronomico Mediterraneo of Zaragoza and the CEC Directorate General for Agriculture Brussels. *Livestock Production Science*. 38: 149-159.
- Hervé M. (2013). Carne ovina: Producción, características y oportunidades en lo que hoy demanda el consumidor nacional e internacional. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA), Santiago, Chile.
- Jacques J., Berthiaume R., Cinq-Mars D. (2011). Growth performance and carcass characteristics of Dorset lambs fed different concentrates: Forage ratios or fresh grass. *Small Ruminant Research*. 95: 113-119.
- Kremer R., Barbato G., Castro L., Rista L., Rosés L., Herrera V., Neirotti V. (2004). Effect of sire breed, year, sex and weight on carcass characteristics of lambs. *Small Ruminant Research*. 53: 117-124.
- Lambe N., Navajas E., Bünger L., Fisher A., Roehe R., Simm G. (2009). Prediction of lamb carcass composition and meat quality using combinations of post-mortem measurements. *Meat Science*. 81: 711-719.

- Luciano G., Biondi L., Scerra M., Serra A., Melle M., Lanza M., Priolo A. (2013). The effect of the change from a herbage- to a concentrate-based diet on the oxidative stability of raw and cooked lamb meat. *Meat Science*. 95: 212-218.
- Macit M., Aksakal V., Emsen E., Aksu M. I., Karaoglu M., Esenbuga N. (2003). Effects of vitamin E supplementation on performance and meat quality traits of Morkaraman male lambs. *Meat Science*. 63: 51-55.
- McAfee A. J., McSorley E. M., Cuskelly G. J., Moss B. W., Wallace J. M. W., Bonham M. P., Fearon A. M. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*. 84: 1-13.
- Mioč B., Krvavica M., Vnučec I., Držaić V., Prpić Z., Kegalj A. (2011): Klaonički pokazatelji i odlike trupova trvničke pramenke. *Stočarstvo*. 65: 179-188.
- Mounier L., Dubroeuq H., Andanson S., Veissier I. (2006). Variations in meat pH of beef bulls in relation to conditions of transfer to slaughter and previous history of the animals. *Journal of Animal Science*. 84: 1567-1576.
- Ouali A., Herrera-Mendez C., Coulis G., Becila S., Boudjellal A., Aubry L., Sentandreu M. A. (2006). Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science*. 74: 44-58.
- Pearce K., Rosenvold K., Andersen H., Hopkins D. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes-A review. *Meat Science*. 89: 111-124
- Perlo F., Bonato P., Teira G., Tisocco O., Vicentin J., Pueyo J., Mansilla A. (2008). Meat quality of lambs produced in the Mesopotamia region of Argentina finished on different diets. *Meat Science*. 79: 576-581.
- Ramirez-Retamal J., Morales R. (2014). Influence of breed and feeding on the main quality characteristics of sheep carcass and meat: a review. *Chilean Journal of agricultural research*. 74 (2): 225-233.
- SAS (2019). SAS Version 9.4. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sepúlveda W., Maza M., Pardos L. (2011). Aspects of quality related to the consumption and production of lamb meat. Consumers versus producers. *Meat Science*. 87: 366-372.
- Tejeda J., Peña R., Andrés A. (2008). Effect of live weight and sex on physico-chemical and sensorial characteristics of Merino lamb meat. *Meat Science*. 80: 1061-1067.
- Weglaz A. (2010). Meat quality defined based on pH and colour depending on cattle category and slaughter season. *Czech Journal of Animal Science*. 55: 548-556.

## **Carcass and meat quality characteristics of Istrian sheep**

### **Abstract**

The aim of this study was to determine the carcass and meat quality characteristics of Istrian sheep. For this purpose, 31 ewes were slaughtered and the carcasses were subjected to standard procedures. Immediately after slaughter, carcass characteristics, body measurements and determination of meat color and pH value were performed 45 minutes after slaughter (pH<sub>45</sub>). The average body weight of sheep was 59.34 kg, carcass weight 30.44 kg, yield 50.66% and pH<sub>45</sub> 6.09. The carcass of Istrian sheep is quite long (83.02 cm) and deep in the chest (34.47 cm), which is expected because these are important breed characteristics. According to carcass characteristics, it can be concluded that Istrian sheep certainly has a potential for meat production.

**Key words:** Istrian sheep, carcass measurement, color, pH value

## Influence of reproductive status on hematological parameters of ewes

Josip Novoselec, Željka Klir Šalavardić, Zvonimir Steiner, Mario Ronta, Zvonko Antunović

*Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Croatia (jnovoselec@fazos.hr)*

### Abstract

Aim of this research was to determine and analyze the hematological parameters of late gestation and lactating ewes and compare them with reference values. The research was conducted on 10 Merinolandschaf late gestation and lactation ewe. All hematological parameters were within the reference values, except a slight deviation of HCT and MCV which can be a sign of dehydration or a higher number of circulating RBC's in gestation and regeneration responses. A significant increase in monocytes in lactating ewes can be associated with environmental stress and high nutritional requirements due to milk production.

**Key words:** ewe, reproduction status, hematological parameters, blood

### Introduction

Blood is the fluid tissue of the cardiovascular system, an important indicator of physiological and pathological changes in the organism. Analysis of blood, i.e. the number and morphology of its cellular elements RBC – red blood cells (erythrocytes), WBC – white blood cells (leukocytes), and platelets is a widely used diagnostic tool for many disorders and diseases. Disease, reduced production and reproduction performance can cause significant economic losses, which can be prevented or reduced by analysis of hematological parameters. Recent studies showed that many factors can influence blood parameters in small ruminants. These factors include disorders, stressors (Oramari et al., 2014), age, and nutritional status (Antunović et al., 2017), physiological stage of the ruminants (Stevanović et al., 2015) season, breed (Rathwa et al., 2017), and environmental factors (Titaouine et al., 2017). Hematological parameters are indicators of the physiological status of animals (Khan and Zafar, 2005), i.e., they are factors that indicate the condition of the organs in which blood cells are produced (Bamishaiye et al., 2009). The physiological status is one of the important factors that affect blood parameters that are involved in the development of the blood metabolic profile. Pregnancy and lactation develop metabolic stresses that are evident through changes in metabolic profile (Antunović et al., 2011). The blood parameters profile has become an essential tool that can be used for evaluating and monitoring the health as well as the nutritional and metabolic conditions of the animals (Carlos et al., 2015). Investigation of content PCV – packed cell volume, RBC, and WBC values during the lactation period could be explained as signs of anemia, infections, digestive disorders, and reproductive and metabolic diseases in animals (Nozad et al., 2014). These parameters are also important indicators of the health condition and metabolic activity in pregnant animals (Karapehlivan et al., 2007). Understanding the normal blood parameters values would be a useful index in the determination of the physiological aspects in various physiological

statuses including non-pregnant or pregnant ewes. Given the above, this study aims to determine and analyze the hematological parameters of late gestation and lactating ewes and compare them with reference values.

### Materials and methods

The research was conducted on 10 Merinolandschaf sheep. The selected ewes were of an average age of four years, healthy and in good physical condition. Ewes, used for research were selected from a flock of 200 animals. The research started in autumn, by selecting the late gestation ewes and continued during the spring of next year with the same lactating ewes. The ewes were fed a meal consisting of fodder mixture, barley, and alfalfa hay which, like water had, *ad libitum*. The chemical composition of the feed mixture is shown in Table 1.

Table 1. Chemical composition of feed mixture, barley and alfalfa hay

Ingredient, %	Feed mixture	Barley	Alfalfa hay
Dry mater	88.00	87.12	91.40
Crude protein	17.73	8.35	17.74
Crude fiber	6.40	3.80	30.90
Crude fat	7.00	2.87	7.60
Ash	3.00	1.30	1.00
Metabolize energy MJ/kg DM	11.2	11.53	7.90

DM = dry matter

Blood sampling was carried out in late gestation ewes and ewes in lactation (on days -14 and 23 relative to parturition). Blood samples were collected from the jugular vein into a sterile vacuum tube Venoject® (Leuven, Belgium). In whole blood of ewes was determined (WBC-leukocytes, RBC-erythrocytes, HGB-hemoglobin, HCT-hematocrit, MCV-mean corpuscular volume, MCH- mean corpuscular hemoglobin, MCHC- mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT – platelet count) on a 3-diff hematology analyzer SYSMEX pocH-100iV. To determine the relationship between individual types of leukocytes, blood smears stained by the Pappenheim method were made. The relative proportion of individual white cells (neutrophils, eosinophils, basophils, monocytes, and lymphocytes) is expressed as a percentage relative to the total leukocyte count. The mean values of the obtained research results were calculated by the MEANS procedure in the computer program TIBCO Statistica® 13.3.0. Differences between mean values of analyzed parameters were checked by the t-test method between dependent variables at the significance level  $P < 0.05$ .

### Results and discussion

Insignificant changes in blood indicators due to the effect of the physiological status of Merinolandschaf ewes are shown in Table 2. Most indicators of late gestation and lactating ewes were within the reference values. The results show an increase in the values of HCT and MCV compared to the reference values determined by Moris et al. (2002). Increased MCV (macrocytosis) is an indication of regenerative response, while microcytosis (decreased MCV) is often noted in iron deficiency. An increase in the values of MCH and MCHC indicates a good condition of the bone marrow of animals, i.e. a sign that ewes are not anaemic (Aster, 2004). In sheep, anaemia is considered when HCT values fall below 24%, (Polizopoulous, 2010), which is not a case in present study, contrary HCT is above 50%. Increased HCT, is more commonly secondary and occurs simultaneously with severe dehydration due to various systemic diseases, such cardiopulmonary disease and of renal or



haemopoietic neoplasia (Jones and Allison, 2007). Kopp and Hetesa (2000) documented that higher HCT may indicate an increase in the number of circulating RBCs in pregnancy which is in accordance with present study. Increased hemoglobin content in late gestation ewes are probably due to higher demand for oxygen and the requirements of higher metabolic rate for pregnancy. Increase in hemoglobin content during pregnancy confirms the results by El-Sherif and Assad (2001), Antunović et al. (2011), and Sharma et al. (2015). The MCV and MCHC are transport markers of oxygen. The increased oxygen demand stimulates an increase of hemoglobin concentrations which results in higher levels of oxygen transport (Gravena et al., 2010). An increasing trend of WBC in lactating ewe is visible and this result is in accordance with a study on Ossimi ewes by Soliman (2014), and a study on Tsigai ewes by Antunović et al. (2011), suggesting that the higher number of total WBCs count during early lactation is probably a response to uterine involution.

Table 2. Hematological indicators of ewes depending on reproduction status

Indicators	Reproduction Status		SEM	P-value	Reference value <sup>1</sup>
	Late gestation Mean ± sd	Lactation Mean ± sd			
WBC x 10 <sup>9</sup> /L	7.24 ± 2.21	9.25 ± 3.18	0.585	0.086	4 – 12
RBC x 10 <sup>12</sup> /L	11.92 ± 3.55	11.27 ± 1.10	0.529	0.548	9 – 15
HGB, g/L	137.58 ± 40.51	134.00 ± 12.00	5.976	0.771	90 – 150
HCT, g/L	0.52 ± 0.14	0.50 ± 0.05	0.021	0.689	0.27 – 0.45
MCV, fL	45.04 ± 2.66	45.03 ± 2.73	0.538	0.994	28 – 40
MCH, pg	11.85 ± 0.66	11.93 ± 0.69	0.135	0.788	8 – 12
MCHC, g/L	263.25 ± 11.77	264.92 ± 11.81	2.360	0.732	310 – 340
PLT x 10 <sup>9</sup> /L	299.58 ± 128.10	355.58 ± 163.09	29.851	0.359	250 – 750

SD- standard deviation; SEM- standard error of mean; WBC-number of leukocytes, RBC-erythrocytes, HGB-hemoglobin, HCT-hematocrit, MCV-mean corpuscular volume, MCH- mean corpuscular hemoglobin, MCHC- mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT – platelet count; <sup>1</sup>Moris et al. (2002)

White blood cell types shown in Table 3 were within reference value determined by Latimer et al. (2003).

Table 3. Relative shares of individual morphological forms of leukocytes in ewes blood depending on reproductive status

Indicators, %	Reproduction status		SEM	P-value	Reference value <sup>1</sup>
	Late gestation Mean ± sd	Lactation Mean ± sd			
Segmented Granulocytes	32.00 ± 10.31	38.58 ± 12.52	2.391	0.174	10 – 50
Unsegmented Granulocytes	0.16 ± 0.38	0.33 ± 0.65	0.108	0.454	0
Lymphocytes	62.83 ± 11.53	53.42 ± 11.63	2.513	0.059	50 – 70
Eosinophil granulocytes	4.83 ± 2.33	5.83 ± 5.73	0.879	0.581	1 – 8
Monocytes	0.17 <sup>A</sup> ± 0.38	1.75 <sup>B</sup> ± 1.22	0.244	0.0003	0 – 4
Basophils Granulocytes	0 ± 0	0.08 ± 0.28	0.042	0.328	0 – 1

SD- standard deviation; SEM- standard error of mean; <sup>A, B</sup> = P < 0,01; <sup>1</sup> Latimer et al. (2003)

The higher proportion of lymphocytes in the blood of late gestation compared to lactating ewes indicates an immunomodulatory response of the organism. Lymphocytes are responsible for humoral and cellular immune response and their increase in the blood may be an indicator of the body's immunomodulatory response (Qureshi et al., 2001). Significantly higher monocytes in lactating ewes, but within reference value, accompanied with higher WBC, neutrophils and lower lymphocyte may be normal response to environmental stress, excitement and high nutritional requirements in lactation promoting

epinephrine release (Aiche et al., 2020). The decrease in lymphocyte's in ewes in lactation may be due to the negative energy balance (Aiche et al., 2020). According to Hefnawy et al. (2011) significant decrease in lymphocytes due to the increase in ketone bodies ( $\beta$ HB), have a significant impact on the immune system.

## Conclusion

Hematological analysis provides reliable information on animal health. It is important in assessing the nutrition, reproductive status, and adaptability of animals' in the demanding phase of their life. All hematological parameters were within the reference values, except a slight deviation of HCT and MCV which can be a sign of dehydration or a higher number of circulating RBC's in pregnancy and regeneration responses. A significant increase in monocytes in lactation can be associated with environmental stress and high nutritional requirements due to milk production.

## Acknowledgment

The research paper has been carried within the research team Innovative breeding and technological processes in animal production (No. 1126) at Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek.

## Literature

- Aiche S., Smail F., Chikhaoui M., Abdelhadi A. S. (2020). Factors Influencing the Hematological Parameters in Ewes of the Rembi Breed during Late Pregnancy in Tiaret Region, West of Algeria. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 66 (1): 111-117.
- Antunovic Z., Novoselec J., Sauerwein H., Speranda M., Vegara M. Pavic, V. (2011). Blood etabolic profile and some of hormones concentration in ewes during different physiological status. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 17: 687-695.
- Antunović Z., Novoselec J., Klir Ž. (2017). Hematological Parameters In Ewes During Lactation In Organic farming. *Poljoprivreda*. 23 (2): 46-52.
- Aster J.C. (2004). Anemia of diminished erythropoiesis. In *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, Kumar V., Abbas A.K., Fausto N., Robbins S.L., Cotran R.S. (Eds.), (7<sup>th</sup> ed., 638-649.). Saunders Co. Philadelphia.Pp. 619-932.
- Bamishaiye E.I. Muhammad N. O., Bamishaiye O. M. (2009). Heamatological parameters of albino rats fed on tiger nuts (*Cyperus esculentus*) tuber oil meal-based diet. *The International Journal of Nutrition and Wellness*. 10: 1.
- Carlos M. M. L., Leite J. H. G. M., Chaves D. F., Vale A. M., Facanha D. A. E., Melo M. M., Soto-Blanco B. (2015). Blood parameters in the Morada Nova sheep: influence of age, sex and body condition score. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 25 (4): 950-955.
- El-Sherif M. M., Assad F. (2001). Changes in some blood constituents of Barki ewes during pregnancy and lactation under semiarid conditions. *Small Ruminant Research*. 40: 269-277.
- Gravena K., Sampaio R. C. L., Martins C. B., Dias D. P. M., Orozco C. A. G., Oliveira J. V., Lacerda-Neto J.C. (2010). Hematological Parameters Of Pregnant. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*. 62 (6): 1514-1516.
- Hefnawy A. E., Shousha S., Youssef S. (2011). Hematobiochemical Profile of Pregnant and Experimentally Pregnancy Toxemic Goats. *Journal of Applied Chemistry*.1 (8): 65-69.
- Jones M. L., Allison R. W. (2007). Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*. 23: 377-402.
- Khan T. A., Zafar F. (2005). Haematological Study in Response to Varying Doses of Estrogen in Broiler Chicken. *International Journal of Poultry Science*. 4 (10): 748-751.
- Karapehliyan M., Atakisi A., Atakisi O., Yucayurt R., Pancarci S. M. (2007): Blood biochemical parameters during the lactation and dry period in Tuj ewes. *Small Ruminant Research*. 73: 267-71.

- Kopp R., Hetesa J. (2000). Changes of hematological indices of juvenile carp (*Cyprinus carpio L.*) under the influence of natural populations of cyanobacterial water blooms. *Acta Veterinaria Brno*. 69: 131–137.
- Latimer K. S., Maheffey E. A., Prasse K. W. (2003). Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology, 4<sup>th</sup> ed. Plumb's Veterinary Drug Handbook, 5<sup>th</sup> edition. pp. 1241-1249.
- Morris D. D. (2002). Alterations in the Clotting Profile. In: *Large animal internal medicine* (Smith, Bradford P. 3<sup>rd</sup> ed.). Mosby Inc. A Harcourt Health Sciences Company 11830 Westline Industrial Drive St. Louis, Missouri pp. 415 – 439.
- Nozad Sh., Ramin A. G., Moghaddam Gh. (2014). Monthly evaluation of blood hematological, biochemical, mineral, and enzyme parameters during the lactation period in Holstein dairy cows. *Comparative Clinical Pathology*. 23: 275-281.
- Oramari R. A., Bamerny A. O., Zebari H. M. (2014). Factors Affecting Some Hematology and Serum Biochemical Parameters in Three Indigenous Sheep Breeds. *Advances in Life Science and Technology*. 21 (12): 56-62.
- Qureshi Z. I., Lodhi L. A., Samad H. A., Naz N. A., Nawaz M. (2001). Hematological profile following immunomodulation during late gestation in buffaloes (*Bubalis Bubalus*). *Pakistan Veterinary Journal*. 21: 148-151.
- Polizopoulous Z. S. (2010). Haematological test in sheep health management. *Small Ruminant Research*. 92 (1-3):88-91.
- Rathwa S. D., Vasava A. A., Pathan M. M., Madhira S. P., Patel Y. G., Pande A. M. (2017). Effect Of Season On Physiological, Biochemical, Hormonal, And Oxidative Stress Parameters Of Indigenous Sheep. *Veterinary World*. 10 (13): 650-654.
- Sharma A., Kumar P., Singh M., Vasishta N. K. (2015). Haemato-biochemical and endocrine profiling of north western Himalayan Gaddi sheep during various physiological/reproductive phases. *Open Veterinary Journal*. 5 (2): 103-107.
- Soliman E. B. (2014). Effect of physiological status on some hematological and biochemical parameters of ossimi sheep. *Wgyptian Journal of Sheep and Goat Science*. 9 (2): 33-42.
- Stevanović O., Stojiljković M., Nedić D., Radoja D., Nikolić V., Prodanović R., Ivanov S., Vujanac I. (2015): Variability Of Blood Serum Biochemical Parameters In Karakachan Sheep. *Biotech. Animal Husbandry*. 31 (1): 55-62.
- TIBCO Statistica® 13.3.0. 2015. [www.tibco.com/products/tibco-statistica](http://www.tibco.com/products/tibco-statistica).
- Titaouine M., Bergonier D., Meziane T., Deghrouche K., Mohamdi H. (2017). Variations Environnementales De Paramètres Sanguins De Brebis Ouled Djellel A 3 Altitudes en levage Extensif, Algérie. *Livestock Research for Rural Development*. 29 (3): 44.

## Utjecaj reprodukcijskog statusa na hematološke pokazatelje ovaca

### Sažetak

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi i analizirati hematološke pokazatelje visoko gravidnih ovaca i ovaca u laktaciji te ih usporediti s referentnim vrijednostima. Istraživanje je provedeno na 10 ovaca Merinolandschaf pasmine u visokoj gravidnosti i laktaciji. Svi hematološki pokazatelji bili su unutar referentnih vrijednosti, osim blagog odstupanja HCT i MCV, što može biti znak dehidracije ili većeg broja cirkulirajućih eritrocita u graviditetu i oporavljanja organizma. Značajano povećanje monocita u laktaciji može biti povezan s okolišnim stresom i visokim hranidbenim potrebama zbog proizvodnje mlijeka.

**Gljučne riječi:** ovaca, reprodukcijski status, hematološki pokazatelji, krv

## Proizvodni pokazatelji sisajuće teladi

Mario Ronta, Zvonimir Steiner, Josip Novoselec, Željka Klir Šalavardić, Ivana Prakatur

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayer u Osijeku, V. Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska (mronta@fazos.hr)*

### Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi proizvodne pokazatelje u sisajuće teladi. Istraživanje je rađeno na 10 grla sisajuće teladi do odbića koje je izvršeno 68. dana istraživanja. Od proizvodnih pokazatelja praćeni su tjelesna masa, dnevni prirast te tjelesne mjere pomoću kojih su izračunati indeks anamorfoznosti te indeks tjelesne kompaktnosti. Tjelesna masa određena je individualno odmah nakon teljenja te 31. i 62. dana te su izračunati dnevni prirasti. Uzimanje tjelesnih mjera provedeno je 5., 31. i 62. dana starosti teladi. Rezultati istraživanja pokazuju kako su svi proizvodni pokazatelji pokazali značajno više vrijednosti s porastom dobi teladi osim prosječnog dnevnog prirasta. Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti kako su telad u istraživanju imala odgovarajući rast i razvoj.

**Ključne riječi:** dob, telad, proizvodni pokazatelji, tjelesne mjere, sisajuće razdoblje

### Uvod

Proteklih godina provedena su brojna istraživanja o utjecaju raznih načina hranidbe teladi mlijekom i mliječnom zamjenicom na proizvodne pokazatelje (Quigley i sur., 2006.; Kristensen i sur., 2007.; Roth i sur., 2009.). Većom konzumacijom mlijeka postižu se veći prirasti tjelesne mase, ali je zato smanjena konzumacija krute hrane tijekom sisajućeg razdoblja (Jasper i Weary, 2002.). Kertz i sur. (2017.) u svom radu navode da, ukoliko se želi smanjiti negativan učinak odbića na prirast, treba primjenjivati metodu odbića s osam tjedana starosti i metodu postepenog odbića pomoću automata za automatsko napajanje teladi. Kao gornju granicu za odbiće Appleman i Owen (1974.) navode dob od 6 tjedana. Zakiseljeno mlijeko ili mliječna zamjenica predstavljaju alternativu u hranidbi sisajuće teladi. Istraživanje koje su proveli Ribeiro i sur. (2009.) pokazalo je kako zakiseljavanje mlijeka i mliječne zamjenice ne utječe na konzumaciju suhe tvari i prosječni dnevni prirast. Opskrba hranjivim tvarima mora biti koordinirana u skladu s progresijom rasta teladi kako bi se ostvario optimalni rast (Owens i sur. 1993.). Kako bi se optimalan rast nastavio i nakon odbića potrebno je razviti probavni sustav tako da tele može potrebne hranjive tvari iskorištavati iz krute hrane. U tu svrhu teladi se od najranije dobi daje čvrsta hrana. Pazoki i sur. (2017.) navode kako povećana konzumacija krute hrane povoljno utječe na proizvodne pokazatelje.

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi proizvodne pokazatelje teladi pri odbiću u 10. tjednu starosti napajane zakiseljenim mlijekom i hranjene peletiranom smjesom u konvencionalnom uzgoju.

### Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na 10 teladi holstein pasmine na govedarskoj farmi u konvencionalnom uzgoju, istraživanje je trajalo do odbića, odnosno do 68. dana. Telad je nakon teljenja izvagana kako bi se odredila porođajna masa te joj je nakon toga dano 4 L kolostruma koji je apliciran putem sonde izravno u sirište. Prva 3 dana telad je boravila u

rodilištu te je 4. dan smještena u individualne boksove nakon čega su slijedeći dan određene tjelesne mjere uz pomoć Lydtinova štapa i mjerne vrpce. Od tjelesnih mjera određene su: dužina trupa, visina grebena, širina prsa, dubina prsa, visina kuka, širina kuka, opseg prsa, opseg trupa, te dužina buta 5., 31. i 62. dana nakon teljenja, dok je mjerenje tjelesne mase provedeno pojedinačno odmah nakon teljenja te 31. i 62. dana. Na temelju tjelesnih mjera izračunati su indeks anamorfoznosti te indeks tjelesne kompaktnosti prema Terzanu i sur., (2007.), dok je na temelju tjelesne mase izračunat prosječni dnevni prirast. Prva tri dana telad je napajana s 3,5 L svježeg nepasteriziranog mlijeka dva puta dnevno. Nakon tri dana boravka u rodilištu telad je premještena u staju gdje je napajana s 3,5 L zakiseljenog nepasteriziranog mlijeka dva puta dnevno. Odbiće je provedeno postupnim smanjenjem količine mlijeka (step down metoda) od 55. do 67. dana istraživanja. Čvrsta hrana i voda ponuđeni su ad libitum tijekom cijelog istraživanja.

Tablica 1. Sirovinski i nutritivni sastav peletirane smjese

Krmivo	Udio pojedinog krmiva (%)	Krmivo	Udio pojedinog krmiva (%)
Kukuruz	43,64	Sačma suncokreta	3,0
Kukuruz u zrnu	-	Sačma uljane repice	3,0
Sijeno lucerne	-	Energizer RP 10	-
Ječam	-	Vezivo za peletiranje	0,30
Pšenica	10,00	Aroma Dairy lure	0,06
Soja	4,00	Stočna sol	0,30
Pšenične posije	8,00	Monokalcij fosfat	0,80
Sojina sačma	20,00	Stočna kreda	1,40
Kukuruzni gluten	-	Natrij bikarbonat	0,50
Melasa	4,50	Premiks	0,50
Kemijski sastav (u suhoj tvari)			
Sirove bjelančevine (g/kg)	180,47	RDP (g/kg)	58,65
Sirove masti (g/kg)	31,18	ME preživaci MJ/kg	10,93
Sirova vlakna (g/kg)	45,02	Ca (g/kg)	7,9
Pepeo (g/kg)	62,14	P (g/kg)	6,28
ADF (g/kg)	55,72	Na (g/kg)	2,94
NDF (g/kg)	126,44	K (g/kg)	9,65
NET (g/kg)	516,56	Mg (g/kg)	2,02
Škrob (g/kg)	345,53	Fe (g/kg)	0,05
RUP (g/kg)	37,48	RDP (g/kg)	58,65

Na kraju istraživanja dobiveni rezultati obrađeni su računalnim programom Statistica (StatSoft, Inc., 2012.). Značajnost razlika između srednjih vrijednosti skupina utvrđena je metodom GLM (General Linear Model), analizom varijance (ANOVA) na razini značajnosti  $P < 0,05$  ili niže. Značajnost razlika između srednjih vrijednosti pojedinih skupina utvrđena je korištenjem Tukey *post hoc* testa.

## Rezultati i rasprava

Rezultati prikazani u Tablici 2. prikazuju kako se tjelesna masa uvećala za 29 % prilikom 2. vaganja (31. dan) u odnosu na 1. vaganje te 47 % prilikom 3. vaganja (62. dan) također u odnosu na 1. vaganje. Dobivene vrijednosti i njihovo kretanje u skladu je s istraživanjima koje su proveli Khan i sur. (2007.) te Eckhert i sur. (2015.) koji su u svojim istraživanjima također koristili metodu postepenog odbića. Tjelesne mjere pokazatelj su rasta i razvoja teladi, mogu upućivati na anatomske razvoj probavnih organa, njihovu metaboličku aktivnost i iskorištenje hrane (Khan i sur., 2007.; Todd i sur., 2017.; Ülger i sur., 2016.), a neki autori

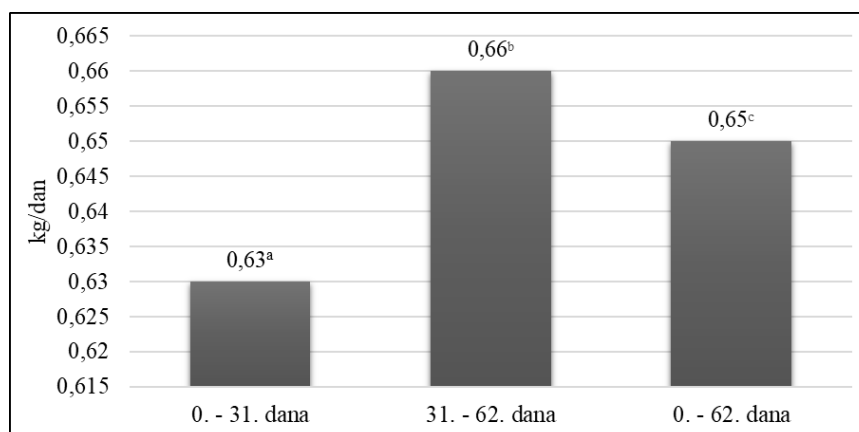
navode kako mogu biti i pokazatelj buduće proizvodnje mlijeka (Van De Stroet i sur., 2016.; Heinrichs i Hargrove 1987.). Kretanje vrijednosti eksterijernih odlika u skladu je s očekivanjima te je vidljivo kako su se eksterijerne odlike povećavale s porastom dobi teladi. Indeksi anamorfoznosti i tjelesne kompaktnosti očekivano su se povećavali s porastom teladi što ukazuje na pravilan razvoj respiratornog i probavnog sustava (Chiofalo i sur., 2004.; El-Sayed i sur., 2019.) te tjelesne kompaktnosti.

Tablica 2. Tjelesna masa, eksterijerne odlike te tjelesni indeksi teladi u istraživanju

Parametar	1. mjerenje	2. mjerenje	3. mjerenje	SEM	P
	± sd	± sd	± sd		
Tjelesna masa	41,00 <sup>a</sup> ± 2.26	57,95 <sup>b</sup> ± 3.84	78,56 <sup>c</sup> ± 4,67	2,927	0,001
Dužina tijela	68,45 <sup>a</sup> ± 2.84	74,55 <sup>b</sup> ± 2.05	87,00 <sup>c</sup> ± 2,20	1,494	0,001
Visina grebena	76,10 <sup>a</sup> ± 2.28	82,30 <sup>b</sup> ± 1.86	89,40 <sup>c</sup> ± 2,13	1,075	0,001
Opseg trupa	82,75 <sup>a</sup> ± 1.21	94,20 <sup>b</sup> ± 4.57	107,55 <sup>c</sup> ± 4,37	1,993	0,001
Opseg prsa	79,40 <sup>a</sup> ± 2.08	88,75 <sup>b</sup> ± 2.36	98,30 <sup>c</sup> ± 2,41	1,488	0,001
Širina prsa	12,97 <sup>a</sup> ± 0.81	15,45 <sup>b</sup> ± 1.07	17,90 <sup>c</sup> ± 1,29	0,419	0,001
Dubina prsa	26,57 <sup>a</sup> ± 1.40	30,70 <sup>b</sup> ± 2.39	35,65 <sup>c</sup> ± 1,27	0,756	0,001
Visina kuka	80,35 <sup>a</sup> ± 1.68	85,00 <sup>b</sup> ± 1.25	93,55 <sup>c</sup> ± 1,50	1,048	0,001
Širina kuka	20,10 <sup>a</sup> ± 1.15	23,05 <sup>b</sup> ± 1.32	26,90 <sup>c</sup> ± 0,88	0,554	0,001
Dužina buta	38,20 <sup>a</sup> ± 0.92	41,50 <sup>b</sup> ± 0.88	43,50 <sup>c</sup> ± 1,65	0,458	0,001
Indeks anamorfoznosti	83,42 <sup>a</sup> ± 4.30	95,86 <sup>b</sup> ± 6.37	108,24 <sup>c</sup> ± 6,44	2,140	0,001
Indeks tjelesne kompaktnosti	0,54 <sup>a</sup> ± 0.03	0,71 <sup>b</sup> ± 0.06	0,88 <sup>c</sup> ± 0,06	0,027	0,001

= srednja vrijednost; sd = standardna devijacija; SEM = srednja standardna pogreška; <sup>a,b,c</sup>P < 0,01

U Grafikonu 1. prikazano je kretanje vrijednosti prosječnog dnevnog prirasta u različitim vremenskim razdobljima istraživanja. Vidljivo je kako je prosječan dnevni prirast u drugoj polovici istraživanja, odnosno od 31. – 62. dana bio viši u odnosu na prvu polovicu istraživanja (0. – 31. dana) za 5 % i ukupno razdoblje trajanja istraživanja (0. – 62. dana) za 2 % odnosno bio je ujednačen. Sličnu tendenciju kretanja vrijednosti prosječnog dnevnog prirasta imali su Quigley i sur. (2006.) koji su u svom istraživanju uspoređivali korištenje mliječnih zamjenica različitih razina proteina i energije te napajanje različitim količinama mliječne zamjenice. Također, Hill i sur. (2013.) u svojem su istraživanju utvrdili slično kretanje vrijednosti prosječnog dnevnog prirasta u drugom pokusu koristeći zakiseljene mliječne zamjenice. Na temelju rezultata može se reći kako je telad u predmetnom istraživanju imala uobičajeno kretanje vrijednosti dnevnog prirasta.



Grafikon 1. Prosječni dnevni prirast teladi

## Zaključak

Telad je imala optimalan prosječni dnevni prirast, a kretanje vrijednosti tjelesne mase odvijalo sukladno dobi i pasmini. Također, dobivene vrijednosti eksterijernih odlika teladi odnosno fenotipskih obilježja i tjelesnih indeksa upućuju na optimalan morfološki i fiziološki razvoj teladi holstein pasmine.

## Literatura

- Appleman R. D., Owen F. G. (1974). Breeding, housing, and feeding management. *Journal of Dairy Science*. 58: 447–464.
- Chiofalo V., Liotta L., Chiofalo, B. (2004). Effects of the administration of Lactobacilli on body growth and on the metabolic profile in growing Maltese goat kids. *Reproduction Nutrition Development*. 44 (5): 449-457.
- El-Sayed A. A., Mousa S. A. (2020). Effects of administration of probiotic on body growth and hematobiochemical profile in growing Barki lambs. *Comparative Clinical Pathology*. 29 (1): 297-303.
- Heinrichs A. J., Hargrove G. L. (1987). Standards of weight and height for Holstein heifers. *Journal of dairy science*. 70 (3): 653-660.
- Hill T. M., Bateman II H. G., Aldrich J. M., Quigley J. D., Schlotterbeck R. L. (2013). Evaluation of ad libitum acidified milk replacer programs for dairy calves. *Journal of dairy science*. 96 (5): 3153-3162.
- Jasper J., Weary D. M. (2002). Effects of ad libitum milk intake on dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 85 (11): 3054-3058.
- Kertz A. F., Hill T. M., Quigley J. D., Heinrichs A. J., Linn J. G., Drackley J. K. (2017). A 100-Year Review: Calf nutrition and management. *Journal of dairy science*. 100 (12): 10151-10172.
- Khan M. A., Lee H. J., Lee W. S., Kim H. S., Ki, K. S., Hur T.Y., Suh G. H., Kang S. J., Choi Y. J. (2007). Structural growth, rumen development, and metabolic and immune responses of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. *Journal of Dairy Science*. 90 (7): 3376-3387.
- Kristensen N. B., Sehested J., Jensen S. K., Vestergaard M. (2007). Effect of milk allowance on concentrate intake, ruminal environment, and ruminal development in milk-fed Holstein calves. *Journal of Dairy Science*. 90 (9): 4346-4355.
- Owens F. N., Dubeski P., Hanson C. F. (1993). Factors that alter the growth and development of ruminants. *Journal of animal science*. 71 (11): 3138-3150.
- Pazoki A., Ghorbani G. R., Kargar S., Sadeghi-Sefidmazzg, A., Drackley J. K., Ghaffari M. H. (2017). Growth performance, nutrient digestibility, ruminal fermentation, and rumen development of calves during transition from liquid to solid feed: Effects of physical form of starter feed and forage provision. *Animal Feed Science and Technology*. 234:173-185.
- Quigley J. D., Wolfe T. A., Elsasser T. H. (2006). Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth, and selected blood metabolites in calves. *Journal of Dairy Science*. 89 (1): 207-216.
- Ribeiro M. D., Pereira J. C., Queiroz A. C. D., Cecon P. R., Detmann, E., Azevêdo, J. A. G. (2009). Performance of dairy calves fed milk, milk replacer or post-weaning concentrate with acidifiers. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 38 (5): 956-963.
- Roth B. A., Keil N. M., Gygax L., Hillmann, E. (2009). Influence of weaning method on health status and rumen development in dairy calves. *Journal of dairy science*. 92 (2): 645-656.
- Terzano G. M., Mazzi M., d'Elisi M. G., Cuscunà F. P., Borghese A., Martiniello P., Pacelli C. (2007). Effect of intensive or extensive systems on buffalo heifers performances: Body measurements and respective indices. *Italian Journal of Animal Science*. 6 (2): 1237-1240.
- Todd C. G., Leslie K. E., Millman S. T., Biemann, V., Anderson N. G., Sargeant J. M., DeVries, T. J. (2017). Clinical trial on the effects of a free-access acidified milk replacer feeding program on the health and growth of dairy replacement heifers and veal calves. *Journal of dairy science*: 100 (1): 713-725.

- Ülger I., Kaliber M., Beyzi S.B., Konca Y. (2017). Effects of Different Quality Roughage Supply on Performance of Holstein Calves during Preweaning Period. *Journal of Agricultural Sciences*. 23 (4): pp. 386-394.
- Van De Stroet, D. L., Díaz J. C., Stalder K. J., Heinrichs, A. J., Dechow, C. D. (2016). Association of calf growth traits with production characteristics in dairy cattle. *Journal of dairy science*. 99 (10): 8347-8355.

## **Production traits in suckling calves**

### **Abstract**

The aim of the study was to determine production traits in suckling calves. The study was performed on 10 suckling calves before weaning, which was performed on day 68 of the study. The monitored production traits are body weight, daily gain and body measures, on the basis of which the anamorphosis index and the body compactness index were calculated. Body weight was determined individually immediately after calving and on the 31<sup>st</sup> and 62<sup>nd</sup> day of age, and daily gain was calculated. Body measurements were measured at 5, 31, and 62 days of calf age. The results of the research show that age significantly affects the selected production traits, with all indicators being significantly higher in value with calf growth except average daily gain. Based on the obtained results it can be concluded that the calves in the study had adequate growth and development.

**Key words:** age, calves, production traits, body measurements, suckling period



## Utjecaj stelje na zdravstvene i proizvodne pokazatelje u tovu pilića

Danijela Samac, Đuro Senčić, Zvonko Antunović, Zvonimir Steiner, Josip Novoselec, Ivana Prakatur, Željka Klir Šalavardić

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska (dsamac@fazos.hr)*

### Sažetak

U tovu pilića uz odabir genotipa, pravilnu hranidbu i optimalnu mikroklimu, važnu ulogu ima i vrsta stelje. Vrsta i kakvoća stelje izravno utječu na mikroklimatske uvjete u objektu, a time i na proizvodne pokazatelje te zdravstveno stanje pilića u tovu. Uloga stelje u tovu pilića prvenstveno je termoizolacija, tj. da štiti perad od hladnoće te upijanje fekalija i suviška vlage iz zraka. Na odabir vrste stelje utječe više čimbenika, kao što su primjerice, njezina termoizolacijska sposobnost te trajnost u eksploataciji, cijena, mogućnost njenog transporta do mjesta proizvodnje te lokalni uvjeti. S obzirom na postojanje velikog broja različitih vrsta stelje, cilj ovoga rada je prikazati kako one utječu na zdravstvene i proizvodne pokazatelje u tovu pilića.

**Ključne riječi:** pilići, tov, stelja, zdravstveni pokazatelji, proizvodni pokazatelji

### Uvod

Proizvodnja mesa peradi u odnosu na ukupnu proizvodnju mesa drugih vrsta životinja je u konstantnom porastu. Razlozi toga su: što ona ne zahtijeva visoka ulaganja u odnosu na neke druge animalne proizvodnje, povrat ulaganja je brz, osigurava zaposlenje u ruralnim sredinama te je izvor kontinuiranih prihoda, k tome, potrošači sve više preferiraju pileće meso kao namirnicu s relativno niskom cijenom koštanja, a visoke nutritivne vrijednosti. Na unosnu proizvodnju mesa pilića utječe više čimbenika kao što su: genotip, hranidba, smještaj, a upravo jedan od faktora smještaja je stelja. Dugi niz godina nije se dovoljno pažnje poklanjalo odabiru stelje (Senčić i sur., 2004.). Stelja je važan faktor u proizvodnji mesa pilića, jer pilići svoj cijeli život provedu na njoj, tj. u stalnom su kontaktu sa steljom (Onbaşilar i sur., 2014.). Ona u tovu pilića prvenstveno ima ulogu termoizolatora, tj. da štiti perad od hladnoće, da upija fekalije i suvišak vlage iz zraka. Debljina nasteljavanja u proizvodnji tovnih pilića kreće se između 10 i 20 cm, ovisno o dobu godine (Hunjnadi i sur., 2009.; Bergman i sur., 2017.). Stelja se definira kao kombinacija osnovnog odabranog materijala koji stavljamo ispod pilića te njihovih izlučevina, perja, rastepene hrane i prosipane vode (Ritz i sur., 2005.; Shepherd i Fairchild, 2010.). Materijala koji se koriste kao stelja u tovu pilića ima puno, a njihova kvaliteta i kakvoća ovise i o regiji u kojoj se koriste. Najčešće korišteni materijali za stelju u tovu pilića su: sjeckana slama, drvene strugotine, suncokretova ljuska, piljevina, rižina ljuska (Senčić i sur., 2004.; Ramadan i El Khloya, 2017.; Žužul i sur. 2017.). U novije vrijeme sve više se uvode i alternativni materijali za stelju kao što su: strugotina bora, gruba borova piljevina (Ritz i sur., 2005.), stelja od oklaska kukuruza, ljuskice zobi, nus proizvodi industrije papira, ljuske kikirikija, pulpa šećerne trske, pijesak i lišće (Swain i Sundaram, 2000.). Dobra stelja mora posjedovati visok stupanj apsorpcije i otpuštanja vlage, mora biti lagana i ne smije štetiti zdravlju pilića. Koja vrsta stelje će se koristiti ovisi o regiji u kojoj se tov pilića odvija (Monira i sur., 2003.; Škrbić i sur., 2012.), o cijeni koštanja stelje te o njezinoj dostupnosti na tržištu. Kada ponuda određene vrste stelje i njezina cijena postanu ograničavajući čimbenik, tada treba razmotriti odgovarajuće zamjene.

## Utjecaj vrste stelje na zdravstvene i proizvodne pokazatelje

Materijal koji se koristi kao stelja u tovu pilića osim što mora dobro apsorbirati vlagu, mora imati i sposobnost njezinog brzog otpuštanja. Stelja je pogodan medij za razmnožavanje bakterija i proizvodnju amonijaka. Vlažna stelja je glavni uzrok emisije amonijaka, koji bitno utječe na proizvodne pokazatelje u tovu pilića. Ritz i sur. (2005.) navode da dugotrajno izlaganje pilića visokim koncentracijama amonijaka (50 do 100 ppm), može uzrokovati keratokonjunktivitis (i posljedično sljepoću), a već kod koncentracije od 25 ppm dolazi do smanjenja prirasta i povećanja konverzije hrane. Što je stelja vlažnija, to će se pospješiti i širenje patogenih bakterija te plijesni. Vlažna stelja uzrokuje gubitak topline kod pilića, hladna je te uzrokuje ljepljenje perja (Senčić i sur., 2004.). Nasuprot prevlažnoj, stelja može biti i presuha (prašnjava), što može dovesti do dehidracije pilića (u prvim danima života) i pojavi respiratornih bolesti. Matković i sur. (2012.) navode kako se u presuhoj stelji stvara prašina koja može na piliće djelovati kao alergen, a koja je također i nosač mikroorganizama te štetnih plinova. Najoptimalnija vlaga stelje u tovu pilića trebala bi biti 20-25 %, odnosno, kao što Sabolek i sur. (2020.) navode, poželjno je da vlažnost stelje bude manja od 30 %. Taherparvar i sur. (2016.) uspoređujući tri različita materijala za stelju (pijesak, drvene strugotine i papir), tijekom 42 dana tova, navode da je najniža vlaga bila kada se koristio pijesak kao stelja u odnosu na drvene strugotine i papir. Slične rezultate ovima dobili su i Garcês i sur. (2013.), koji su uspoređivali fizikalna svojstva različitih vrsta stelje, uključujući pijesak, drvene strugotine i papir. Terčić i sur. (2015.) uspoređivali su stelju od sjeckane slame, piljevine i papira, te su utvrdili kako najviši postotak vlage sadržava stelja od sjeckane slame, a stelja od drvene strugotine pokazala se kao najbolja s obzirom na sadržaj vlage i sposobnost zadržavanja vode. Senčić i sur. (2004.) navode da vrsta i način hranidbe izravno utječu na kvalitetu stelje u tovu pilića. Ritz i sur. (2005.) također navode da vrsta hrane bitno utječe na kvalitetu stelje, odnosno, da hrana u kojoj su veće koncentracije soli uzrokuje veću potrošnju vode kod pilića, a to pak rezultira izlučivanjem veće količine vode i vlažnijom steljom. Prekomjernu potrošnju vode kod pilića u tovu te njezino povećano izlučivanje iz organizma na stelju, mogu potaknuti i neki lijekovi. Koja vrsta i količina stelje će biti korištena ovisi od područja (regije) u kojem se odvija tov pilića, od cijene i dostupnosti materija. Ovisno o tome, u različitim dijelovima svijeta koriste se različite vrste stelje. U Tablici 1. prikazane su različite vrste stelje koje se koriste u tovu pilića te njihove prednosti i nedostaci.

Tablica 1. Prednosti i nedostaci različitih vrsta stelje u tovu pilića (Ritz i sur., 2005.)

Vrsta stelje	Prednosti i nedostaci
Borova strugotina i piljevina	Poželjan materijal za stelju, ali je ograničena ponuda ovoga materijala i visoka je cijena koštanja za neke regije.
Strugotina i piljevina nekog tvrdog drveta	Materijali koji često sadrže visoke koncentracije vlage i podložni su razvijanju plijesni ako nisu pravilno pohranjeni.
Čips od bora ili nekog tvrdog drveta	Materijal koji se pokazao kao veoma dobar u tovu pilića, ali ako je previše vlažan izaziva pojavu kvrga na prsima pilića.
Kora od bora ili nekog tvrdog drveta	Po sposobnosti adsorpcije vlage ovaj materijal je sličan čipsu i piljevini nekog tvrdog drveta. Poželjna je srednja veličina izrezanih čestica.
Ljuske riže	Veoma dobar materijal za stelju kada je dostupan po pristupačnoj cijeni. Mlađe kategorije pilića su sklone konzumaciji ove stelje (što ne predstavlja ozbiljniji problem).

Ljuske kikirikija	Ovo je jedan veoma jeftin materijal za stelju u područjima uzgoja kikirikija. Ovaj materijal je podložan stvaranju plijesni i pojavi aspergiloze. U prošlosti su bili zabilježeni problemi ovoga materijala s tragovima pesticida.
Pijesak	Praktična istraživanja su pokazala da je ovaj materijal po osobinama sličan strugotinama bora. Može se duže vrijeme koristiti tijekom tova, ako se uklanja gornji sloj. Pijesak kao stelja teže održava prikladnu temperaturu poda tijekom hladnijeg vremenskog razdoblja. Potrebno je duže vrijeme i dobra ventilacija da se osuši.
Kukuruzni oklasak	Nedostatak ovoga materijala je ograničena dostupnost. Kod njegove upotrebe može doći do pojave kvrga na prsima pilića.
Nasjeckana slama, sijeno ili kukuruz	Velika je tendencija ka koroštenju ovih materijala, ali pojava plijesni im može biti veliki nedostatak.
Obradeni papir	Razni oblici obrade ovoga materijala pokazali su se kao dobra stelja u istraživanjima i u praksi. Prednost se daje krupnijim česticama materijala. Sklonost pilića da ga konzumiraju ne predstavlja ozbiljniji problem.

Taherparvar i sur. (2016.) u istraživanju tri različite vrste stelje (pijesak, drvene strugotine i papir), uočili su da je unos hrane bio najniži kod pilića držanih na pijesku, dok je kod pilića držanih na drvenim strugotinama bio blago povećan u odnosu na ostale. Sukladno tome, na kraju tova pilići držani na pijesku imali su nešto niže priraste u odnosu na piliće držane na drvenim strugotinama. Također, u istom istraživanju se svaku od ovih vrsta stelje dodatno obogaćivalo s bentonitom i vapnom, što je dovelo do zaključka da su bolji prirasti postignuti u tretmanima s vapnom, nego u tretmanima s bentonitom. Berk i sur. (2009.) su utvrdili da pilići koji su tovljeni na stelji od peletirane slame imaju veću završnu tjelesnu masu u odnosu na piliće držane na stelji od sjeckane slame, a Nowaczewski i sur. (2011.) da pilići koji su tovljeni na stelji od drvene strugotine imaju veće tjelesne mase od pilića tovljenih na stelji od slame i sjeckane slame, dok Bilgili i sur. (2009.) uspoređujući osam različitih vrsta stelje u tovu pilića (strugotinu bora, koru bora, čips od bora, mortni pijesak, sjeckanu pšeničnu slamu, usitnjene pelete tvrdog drveta i ostatke dobivene kod prerade pamuka), nisu zamijetili razlike u proizvodnim svojstvima pilića u tovu. Materijal koji se koristi kao stelja u tovu pilića mora biti zadovoljavajuće kvalitete. Žužul i sur. (2017.) navode, kako stelja loše kvalitete uzrokuje manji prirast i povećanu konverziju hrane kod tovnih pilića te pojavu prsnih kvrga i kontaktnog dermatitisa na jastučićima nogu i tarzalnim zglobovima, a te promjene mogu rezultirati lošom kvalitetom mesa (Senčić i sur., 2004.; Miljković i sur., 2012.; Matković i sur., 2015.).

Djelomično kao posljedica loše kvalitete stelje u tovu pilića zabilježeni su smanjeni prirasti, oslabljen imunološki sustav, povećana učestalost pojave kontaktnog dermatitisa i abnormalnosti nogu (Bilgili i sur., 1999.; Garcia i sur., 2010.). O kvaliteti stelje treba voditi računa ne samo zato što utječe na zdravlje i produktivnost (Bilgili i sur., 2006.; Bjedov i sur., 2013.; Garcês i sur., 2013.), već iz razloga što ona može biti i potencijalni rezervoar i prijenosno sredstvo za patogene.

## Zaključak

Stelja je uz odabir genotipa, pravilnu hranidbu i optimalnu mikroklimu, važan paragenetski čimbenik u proizvodnji tovnih pilića. Vrsta i kakvoća stelje ima značajan utjecaj na proizvodni ishod i zdravstveno stanje kod pilića, jer loš odabir materijala za stelju, a uz to još i loše kakvoće, može uzrokovati niz bolesti i promjena u tovu pilića (pojavu prsnih kvrga, kontaktni dermatitis na jastučićima nogu i tarzalnim zglobovima, oslabljen imunološki sustav i sl.), a te promjene rezultiraju manjim prirastima, povećanom konverzijom hrane i lošijom kvalitetom mesa. S obzirom na sve navedeno, može se zaključiti kako je odabir vrste stelje bitno svojstvo u proizvodnji tovnih pilića.

## Literatura

- Berk J. (2009). Effect of litter type on prevalence and severity of pododermatitis in male broilers. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 122: 257-263.
- Bergman S., Schwarzer A., Wilutzky K., Louton H., Bachmeier J., Schmidt P., Erhard M., Rauch E. (2017). Behavior as welfare indicators for the rearing of broilers in an enriched husbandry environment – a field study. *Journal of Veterinary Behavior.* 19: 90-101.
- Bilgili S. F., Alley M. A., Hess J. B., Nagaray M. (2006). Influence of age and sex on footpad quality and yield in broiler chickens reared on low and highdensity diets. *Journal of Applied Poultry Research.* 15: 433-441.
- Bilgili S. F., Montenegro G. I., Hess J. B., Eckman M. K. (1999). Live performance, carcass quality, and deboning yields of broilers reared on sand as alitter source. *Journal of Applied Poultry Research.* 8: 352-361.
- Bilgili S. F., Hess J. B., Blake J. P., Macklin K. S., Saenmahayak B., Sibley J. L. (2009). Influence of bedding material on footpad dermatitis in broiler chickens. *J Journal of Applied Poultry Research.* 18: 583-589.
- Bjedov, S., Žikić D., Perić L., Đukić Stojčić, M., Milišević N. (2013). Effect of different litter treatments on production performance of broiler chickens. *Biotechnology in Animal Husbandry.* 29: 625-630.
- Garcês A., Afonso S. M. S., Chilundo A., Jairoce C. T. S. (2013). Evaluation of different litter materiald for broiler production in a hot and humid environment: 2. Litter characteristics and quality. *Journal of Applied Poultry Research.* 22: 168-176.
- Garcia R., Almeida P. I., Caldara F. R., Nãas I. A., Pereira D. F., Freitas L. W., Graciano J. (2010). Effect of the litter material on drinking water quality in broiler production. *Revista Brasileira de Ciência Avícola.* 12: 165-169.
- Hunjadi I., Vukušić S., Hren M. (2009). Mogućnost korištenja usitnjenog kukuruznog oklaska za stelju u peradarskoj proizvodnji. *VII. Simpozij Peradarski dani 2009.* Glavni urednik: Balenović M., 255-256. Poreč, Hrvatska: Centar za peradarstvo, Zagreb.
- Matković K., Marušić D., Pavičić Ž., Poljičak Milas N., Ostović M., Lucić H. (2015). Pregled morfoloških svojstava autopodija pilića u tovu kao pokazatelja kvalitete smještaja i dobrobiti. *XI. Simpozij „Peradarski dani 2015. s međunarodnim sudjelovanjem“.* Glavni urednik: Balenović M., 129-132. Šibenik, Hrvatska: Zagreb: Hrvatski veterinarski institut.
- Matković K., Vučemilo M., Vinković B. (2012). Dust and endotoxin in laying hen dwellings. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences.* 36: 189-195.
- Miljković B., Škrbić Z., Pavlovski Z., Lukić M., Ivetić V., Kureljušić B., Petričević V. (2012). Foot-pad dermatitis in commercial broilers. *Biotechnology in Animal Husbandry.* 28: 835-843.
- Monira K. N., Islam M. A., Alam M. J., Wahid M. A. (2003). Effect of litter material on broiler performance and evaluation of manurial value of used litter in late autumn. *Asian-Australasian Journal of Animal Science.* 16: 555-557.
- Nowaczewski S. A., Rosinski A., Markiewicz M., Kontecka H. (2011). Performance, foot-pad dermatitis and haemoglobin saturation in broiler chickens kept on different types of litter. *Archiv fur Geflugelkunde.* 75: 132-139.

- Onbařilar E. E., Erdem E., Ünal N., Kocakaya A., Torlak E. (2014). Effect of *Yucca schidigera* spraying in different litter materials on some litter traits and breast burn of broilers at the fifth week of production. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi Journal*. 19: 749-753.
- Ramadan S. G. A., El-Khloya S. Z. (2017). Do alternative litter materials affect performance, welfare and immune response of broiler chicks? *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 52: 133-141.
- Ritz C. W., Fairchild B. D., Lacy M. P. (2005). Litter Quality and broiler performance. Cooperative Extension, University of Georgia (Bulletin 1267) 2009. URL: <http://pubs.caes.uga.edu/caespubs/pubs/PDF/B1267.pdf>
- Sabolek I., Nejedli S., Matković K., Pavičić Ž., Ostović M. (2020). Pregled dosadašnjih spoznaja o utjecaju visine stelje na pojavnost kontaktnog dermatitisa u tovnih pilića. *Meso*. 22 (5): 378-385.
- Senčić Đ., Antunović Z., Šperanda M. (2004). Ekološka važnost stelje u peradarskoj proizvodnji. *Stočarstvo*. 58 (1): 71-78.
- Shepherd E. M., Fairchild B. D. (2010). Foodpad dermatitis in poultry. *Poultry Science*. 89: 2043-2051.
- Swain B. K., Sundaram R. N. S. (2000). Effect of different types of litter material for rearing broilers. *British Poultry Science*. 41: 261-262.
- Škrbić Z., Pavlovski Z., Lukić M., Petričević V., Milić D. (2012). The effect of lighting program and type of litter on production and carcass performance of two broiler genotypes. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 28: 807-816.
- Taherparvar G., Seidavi A., Asadpour L., Payan-Carreira R., Laudadio V., Tufarelli V. (2016). Effect of litter treatment on growth performance, intestinal development, and selected cecum microbiota in broiler chickens. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 45 (5): 257-264.
- Terčič D., Žolger M., Pestotnik M. (2015). Effect of different litter materials on foot pad dermatitis, hock burn and feather coverage in broiler chickens. *Acta agriculturae Slovenica*. 106 (2): 97-101.
- Žužul S., Ostović M., Matković K., Pavičić Ž., Tršan J., Mikulić M., Ravić I. (2017). Uloga duboke stelje u tovu pilića i svinja. *Meso*. 19 (3): 223-228.

## **Influence of litter on health and production indicators in fattening of chickens**

### **Abstract**

In the fattening of chickens, in addition to the choice of genotype, proper nutrition and optimal microclimate, the type of litter also plays an important role. The type and quality of litter directly affect the microclimatic conditions in the facility, and thus the production indicators and health status of chickens in fattening. The role of litter in chicken fattening is primarily thermal insulation, i.e. to protect poultry from the cold, absorption of feces and excess moisture from the air. The choice of litter type is influenced by several factors, such as: its thermal insulation ability and durability in operation, price and possibility of its transport to the place of production and local conditions. Considering a large number of different types of litter, the aim of this paper is to show how they affect health and production indicators in chicken fattening.

**Key words:** chickens, fattening, litter, health indicators, production indicators

## Attenuation of the heat stress in broilers with the addition of LOVIT<sup>®</sup> to drinking water

Marcela Šperanda<sup>1</sup>, Nadine Hagen-Euteneuer<sup>2</sup>, Saša Lončar<sup>3</sup>, Dalibor Đud<sup>4</sup>, Tomislav Šperanda<sup>1</sup>, Mislav Đidara<sup>1</sup>, Neška Vukšić Končevski<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Faculty of agrobiotechnical sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University in Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Croatia (marcela.speranda@fazos.hr)

<sup>2</sup>Kaesler Nutrition GmbH, Cuxhaven, Germany

<sup>3</sup>PP Orahovica, Ul. Stjepana Mlakara 5, 33513, Orahovica, Croatia

<sup>4</sup>Ministry of agriculture, Alexandera von Humboldta 4b, 10000 Zagreb, Croatia

<sup>5</sup>Croatian Hunting Association, Vladimira Nazora 63, 10000 Zagreb, Croatia

### Abstract

Thermoregulation in poultry can be challenging in hot weather, leading to compromised growing and feed consumption. Heat stress negatively affect the poultry production. Furthermore, prolonged exposure broilers to heat stress can cause production losses and mortality in birds. The main goal of the trial was to determine if the lactose and electrolytes addition could attenuate the negative impact of the heat stress. The experiment was performed on 1000 broilers of Ross provenance for 38 days. The broilers were divided into two groups, 500 broilers each, and fed a standard mixture for fattening broilers. A mixture of lactose and electrolytes (potassium, sodium and magnesium; LOVIT<sup>®</sup>, Kaesler Nutrition, Germany) was mixed into the water of the experimental group. The broilers of the experimental group achieved a significantly ( $P < 0.01$ ) higher daily gain, a total of 7.45%. The control group needed 7.44% more food per kilogram of weight gain by day 18 of the experiment, while in the second part of the trial the food conversion was similar in both groups. Total feed conversion during 38 days of the trial was better in the experimental group compared to the control group (1.51:1.53 kg/kg). Mortality was 55% lower in the experimental group compared to the control.

**Key words:** broilers, heat stress, electrolytes, LOVIT<sup>®</sup>

### Introduction

In modern poultry production, high productive performances are achieved in terms of rapid growth and efficient feed conversion. During the hot weather, this production faces threats of heat stress. We cannot manage climate change and ambient day-night oscillations, but we need to deal with proper microclimate and nutrition management. Broilers should be kept in a thermoneutral zone where birds can maintain a physiological body temperature effortlessly, which means regulating an optimal temperature of up to 21°C at the end of fattening. Often, during the summer months due to inadequate space, overcrowding or poor ventilation, it exceeds 29°C. Under these conditions, broilers reduce feed intake and show altered behaviour because they cannot cool down. High relative air humidity (50% and more) contributes to difficulties when birds cannot cool down by breathing, body temperature rises, increase respiratory rate, blood pH decreases, respiratory alkalosis develops, which negatively affects feed intake and conversion, and survival is endangered (Borges et al., 2003). There are various coping strategies for prevention the effects of heat stress, one of which is nutritional, by addition of electrolytes, vitamins and minerals.

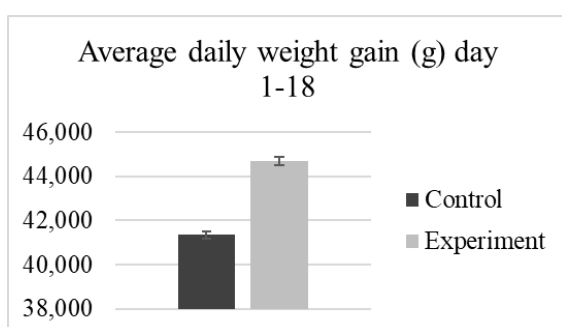
High temperature humidity index (THI) affects the activity of the neuroendocrine system, stimulates cortisol secretion, increases body temperature and respiratory rate, decreases CO<sub>2</sub> concentration, changes the acid-base balance, develops respiratory alkalosis (Raup and Bottje, 1990; Macari et al., 1994). This has negative consequences on the growth, feed conversion and survival of broilers. Electrolytes, such as Na, K, Cl, are necessary for the maintenance of intra- and extracellular homeostasis, electrical potential on the cell membrane, enzymatic activity, osmotic pressure, acid-base balance, protein synthesis and all vital functions of the organism. The aim of this study was to determine the possibility of reducing the effects of heat stress on growth, average daily gain, feed conversion and survival of broilers during 38 days of fattening.

## Material and methods

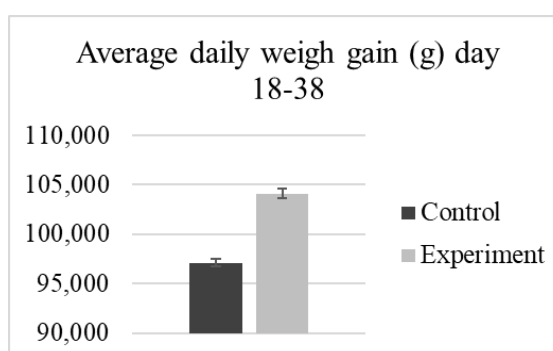
The experiment was conducted on 1000 broilers of Ross provenance divided into two groups, 500 broilers in each. The broilers were fed with a standard complete starter mixture for broilers up to the 18<sup>th</sup> day and a finisher mixture until the 38<sup>th</sup> day of the company Žito, Osijek. The starter contained 22% and the finisher 19.9% crude protein. The experimental group formulation of electrolytes and lactose LOVIT<sup>®</sup> (Kaesler Nutrition, Germany) was added to drinking water for 38 days (750g/1000L). The broilers were weighed on the 1<sup>st</sup>, 18<sup>th</sup> and 38<sup>th</sup> day of the experiment. During the experiment the temperature-humidity index was in the range of moderate heat stress (72-78) for 21 days, and of strong heat stress (79-88) for 10 days. Ambient temperature was accompanied by daily oscillations due to inadequate ventilation. The determined results were processed by the TIBCO Software Inc. (2018). Differences between the mean values of the observed groups were tested by t-test at the significance level of  $P < 0.01$ .

## Results and discussion

At the beginning of the experiment, day-old birds were on average of equal body weight (49.86 g in the control group vs. 49.88 g in the experimental group). After 18 days of fattening, the broilers of the experimental group had a significantly ( $P < 0.01$ ) higher body weight, and thus achieved an 8.11% higher daily weight gain compared to the broilers of the control group (41.34 g vs. 44.69; Graph 1).

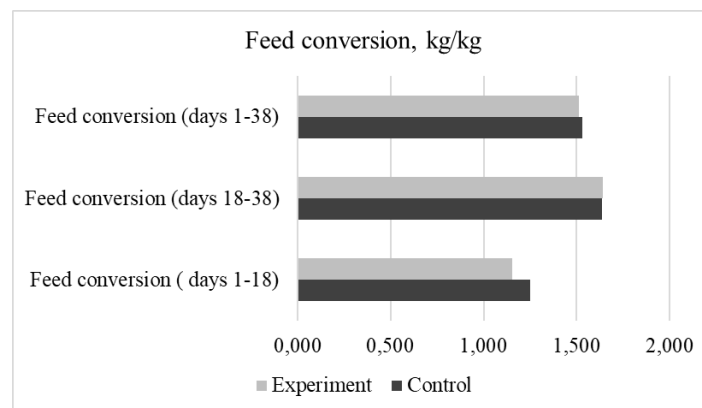


Graph 1. Average daily weight gain of broilers (days 1-18) supplemented with LOVIT<sup>®</sup> in drinking water



Graph 2. Average daily weight gain of broilers (days 18-38) supplemented with LOVIT<sup>®</sup> in drinking water

At the end of the experiment, the broilers of the experimental group achieved a 7.22% higher daily weight gain compared to the broilers of the control group ( $P < 0.01$ ; 97.10 g vs. 104.11 g; Graph 2). The total average daily weight gain was significantly ( $P < 0.01$ ) higher in the experimental group (71.48 g vs. 76.81g) which was 7.45%. The results agree with the research of Belal et al. (2013), who found a higher final body weight in broilers who received electrolytes continuously and who received them intermittently, and does not agree with the research of Nessa (2008) or Borges et al. (2004). The control group needed 7.44% more food per kilogram of weight gain by day 18 of the experiment, while in the second part of the trial the food conversion was similar in both groups (Graph 3). Total feed conversion during 38 days of the trial was better in the experimental group compared to the control group (1.51:1.53 kg/kg). Ahmad et al. (2008) found a significantly higher daily gain of broilers receiving 0.6% KCl in drinking water, as well as a more favorable feed conversion.



Graph 3. Feed conversion of broilers supplemented with LOVIT<sup>®</sup> in drinking water

In the first 18 days of the experiment mortality was 55% less in the experimental group related to the control. Belal et al. (2013) did not find a difference in the survival of broilers with the addition of electrolytes in water. Since the investigated formulation in addition to electrolytes contained lactose, and supplementation was through the drinking water, the absorption of lactose and electrolytes was faster and more efficient, which is in agreement with Dai et al. (2009). The broilers of the experimental group had 3.6% fewer health problems manifested in leg weakness during the first 18 days of the experiment. Similar results were reported by Gamba et al. (2015).

## Conclusion

The addition of lactose and electrolytes to broiler drinking water significantly increases daily gain, improves food conversion, and reduces mortality under heat stress conditions.

## References

- Ahmad T., Khalid T., Mushtaq T., Mirza M. A., Nadeem A., Babar M. E., Ahmad G. (2008). Effect of potassium chloride supplementation in drinking water on broiler performance under heat stress conditions. *Poultry Science*. (87): 1276-80. doi: 10.3382/ps.2007-00299. PMID: 18577605.
- Belal S. A., Mahbub A. S. M., Ara A., Uddin M. N., Hossain F. M. A. (2013). Electrolytes supplementation through drinking water to revive broiler production during tropical summer stresses management. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. (3): 333-338.
- Borges S. A., Fischer da Silva A. V., Arika J., Hooge D. M., Cummings K. R. (2003). Dietary electrolyte balance for broiler chickens exposed to thermoneutral or heat-stress environments. *Poultry Science*. (82): 428-435.



- Borges S. A., Fischer Da Silva A. V., Meira A. D. A., Moura T., Maiorka A., Ostrensky A. (2004). Electrolyte balance in broiler growing diets. *International Journal of Poultry Science*. (3): 623-628.
- Dai N. V., Besei W., Quang N. H. (2009). The effects of sodium chloride and potassium chloride supplementation in drinking water on performance of broilers under tropical summer conditions. *Archives für Geflügelkunde*. (73): 41-48.
- Gamba J. P., Rodrigues M. M., Garcia Neto M., Perri S. H. V., Faria Júnior M. J., Pinto, M. F. (2015). The strategic application of electrolyte balance to minimize heat stress in broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*. (17): 237-245. Available from: <https://doi.org/10.1590/1516-635x1702237-246>
- Macari M., Furlan R. L., Gonzales E. (1994). *Fisiologia avia'ria aplicada a frangos de corte*. FUNEP, Jaboticabal, Brazil.
- Nessa K. (2008). Effect of electrolytes in drinking water on the performance of broilers during summer. MS Thesis. Department of Poultry Science, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh.
- Raup T. J., Bottje W. G. (1990). Effect of carbonated water on arterial pH, PCO<sub>2</sub>, and plasma lactate in heat-stressed broilers. *British Poultry Science*. (31): 377-384.
- TIBCO Software Inc. (2018). *Statistica (data analysis software system)*, version 13. Available from: <http://tibco.com>.

## Ublažavanje učinka toplinskog stresa kod brojlera dodatkom LOVIT® u vodi za piće

### Sažetak

Perad teško održava temperaturu tijela, a to je osobito izraženo tijekom ljetnih vrućina. Toplinski stres negativno utječe na proizvodnju, tako da dugotrajna izloženost toplinskome stresu dovodi do gubitaka u proizvodnji i povećane smrtnosti. Stoga je cilj pokusa bio istražiti hoće li dodatak laktoze i elektrolita smanjiti negativni utjecaj toplinskoga stresa u brojlera. Pokus je proveden na 1000 pilića Ross provenijencije u trajanju od 38 dana. Pilići su podijeljeni u dvije skupine, po 500 pilića u svakoj, a hranjene su standardnom smjesom za tov pilića. Pilićima pokusne skupine u vodu je umiješavana mješavina laktoze i elektrolita (kalija, natrija i magnezija; LOVIT®, Kaesler Nutrition, Njemačka). Pilići pokusne skupine ostvarili su značajno ( $P < 0,01$ ) veći dnevni prirast, ukupno 7,45 %. Kontrolna je skupina trebala 7,44 % više hrane za kilogram prirasta do 18. dana pokusa, a bolju konverziju ostvarila je pokusna skupina i u drugom razdoblju do 38. dana. Mortalitet u pokusnoj skupini bio je 55 % niži u odnosu na kontrolnu skupinu.

**Ključne riječi:** tovni pilići, toplinski stres, elektroliti, LOVIT®

**Voćarstvo,  
Vinogradarstvo  
i vinarstvo**

**08**

**Viticulture,  
Enology and  
Pomology**



## Koncentracija metala u vinima sorte 'Graševina bijela' iz vinogradarske podregije Hrvatsko Podunavlje

Željko Andabaka<sup>1</sup>, Mara Banović<sup>2</sup>, Nina Krpan<sup>1</sup>, Edi Maletić<sup>1</sup>, Jasminka Karoglan Kontić<sup>1</sup>, Darko Preiner<sup>1</sup>, Zvezdana Marković<sup>1</sup>, Domagoj Stupić<sup>1</sup>, Petra Štambuk<sup>1</sup>, Iva Šikuten<sup>1</sup>, Ivana Tomaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska  
(zandabaka@agr.hr)

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Pierottijeva ulica 6, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Graševina je gospodarski najvažnija i najraširenija bijela sorta vinove loze u Republici Hrvatskoj. Pored svih vrijednih spojeva, vino sadrži i teške metale koji u povišenoj koncentraciji mogu utjecati na kvalitetu vina. Njihov sadržaj u grožđu i vinu ovisi o sorti, klimi, tlu te primjeni poljoprivredne prakse u vinogradu i tehnoloških procesa u proizvodnji. Istraživanjem je analizirano 10 vina berbe 2017 godine sorte 'Graševina' iz vinogradarske podregije Hrvatsko Podunavlje (vinogorje Baranja, Srijem i Erdut). ICP-MS i ICP-OES metodama određene su koncentracije teških metala. Rezultati pokazuju da sva analizirana vina udovoljavaju propisanim standardima Pravilnika o proizvodnji vina.

**Ključne riječi:** bijelo vino, Graševina, teški metali, ICP-MS, ICP-OES

### Uvod

Graševina je najzastupljenija i gospodarski najvažnija sorta vinove loze u Republici Hrvatskoj (Maletić i sur., 2015.). Vinogradarska regija Slavonija i Hrvatsko Podunavlje dijeli se na podregiju Slavonija i podregiju Hrvatsko Podunavlje. Podregija Hrvatsko Podunavlje obuhvaća tri vinogorja: Srijem, Erdut i Baranja. Na kvalitetu vina utječu brojni faktori poput tla i klime pojedinog područja, sorte vinove loze, uvjeta prerade grožđa, specifičnosti proizvodnje i načina čuvanja vina (Belitz i sur., 2009.). Svi navedeni čimbenici određuju kemijski sastav i senzorna svojstva vina proizvedenog na određenom zemljopisnom području (Foroni i sur., 2017.). Izvori minerala u vinu mogu biti endogeni (primarni) ili egzogeni (sekundarni). Na njihov sadržaj u vinu utječe koncentracija elemenata u tlu, sposobnost vinove loze da apsorbira minerale iz tla, sorta vinove loze, vinogradarska praksa, onečišćenje okoliša, vremenske prilike, navodnjavanje, uvjeti prerade grožđa i proizvodnje vina te načini čuvanja i skladištenja vina (Álvarez i sur., 2007., Pohl, 2007., Ivanova-Petropulis, 2015.). Najveći dio ukupnog sadržaja elemenata u vinu čine elementi endogenog (primarnog) podrijetla koji potječu iz prirode i na njih nije moguće utjecati (Pohl, 2007.). Posljednjih godina koristi se mineralni profil vina za karakterizaciju sorte ili zemljopisnog podrijetla vina (Cozzolino, 2015.). Vino sadrži više stotina različitih spojeva koje čine *bouquet* vina, a među njima su organske kiseline, aminokiseline, polifenolni spojevi, vitamini (djelomično dolaze od stanica), ali i anorganske tvari: K, Ca Na, Fe, Mn itd. (Ribereau-Gayon i sur., 2006.). Najčešće se teškim metalima definiraju elementi relativne gustoće iznad 5 g/cm<sup>3</sup>, pri čemu nisu svi teški metali toksični, s obzirom da veliki dio njih pripada skupini esencijalnih mikro-elemenata (npr. Fe, Mn, Zn, Cu) neophodnih za život biljaka, životinja i ljudi. Koncentracije metala u vinima variraju zbog podneblja i geografskog područja, pa stoga nije neobično da u susjednim vinogradima postoje velike oscilacije u njihovom sadržaju i količini (Tariba, 2011.). He i suradnici (2005.) su katione, anione i elemente u tragovima definirali kao mineralne tvari koje zaostaju u vinu nakon

spaljivanja do pepela. Ipak, povećane koncentracije minerala mogu negativno utjecati na zdravlje ljudi, ali i uzrokovati taloženje tartara, oksidaciju i zamućenje vina kao i promjene u njegovoj aromi, okusu i boji (Grindlay i sur., 2011., Tariba, 2011.). Cilj ovog istraživanja bio je i određivanje sadržaja teških metala, makro- i mikro-, te elemenata u tragovima u vinima sorte 'Graševina' proizvedenih 2017. godine od strane 10 proizvođača iz podregije Hrvatsko Podunavlje, vinogorja Baranja, Erdut i Srijem..

## Materijal i metode

U ovom radu su analizirane određene koncentracije prisutnih metala u 10 vina sorte 'Graševina' iz vinogradarske podregije Hrvatsko Podunavlje, vinogorja Baranja, Erdut i Srijem pomoću dvije metode: masene spektrometrije induktivno spregnute plazme (ICP-MS) i optičko emisijske spektroskopije induktivno spregnute plazme (ICP-OES). Tim analitičkim metodama određeno je 19 metala (Tablica 1.): makro-elementi: kalcij (Ca), kalij (K), magnezij (Mg) i natrij (Na); mikro-elementi: aluminij (Al), bakar (Cu), barij (Ba), cink (Zn), krom (Cr), mangan (Mn), nikal (Ni), vanadij (V) i željezo (Fe), te elementi u tragovima: arsen (As), kadmij (Cd), kobalt (Co), kositar (Sn), litij (Li), molibden (Mo) i olovo (Pb). Određivanje koncentracije elemenata u uzorcima vina provedeno je primjenom tehnike spektrometrije masa induktivno spregnute plazme (ICP-MS) na uređaju Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Njemačka). Uvjeti rada ICP-MS uređaja podešavaju se prije svake analize pomoću te se prati odziv detektora na masama 7 (Li), 89 (Y) i 205 (Tl) koje pokrivaju mjerno područje detektora u području niskih, srednjih i visokih masa uz istovremeno praćenje omjera dvostruko nabijenih iona i iona oksida Ce u odnosu na jednostruko nabijene ione (Voica i sur., 2009.). Uzorci vina razrijeđeni su 10 puta s 1% (v/v) ultračistom dušičnom kiselinom (300 µL uzorka i 2,7 mL 1% HNO<sub>3</sub>). Ultračista koncentrirana HNO<sub>3</sub> dobivena je destilacijom 65% (p.a.) HNO<sub>3</sub> (Merck, Njemačka) u sustavu za pročišćavanje kiselina SubPUR (Milestone, Italija). U svaki pripremljeni uzorak dodan je unutarnji standard <sup>74</sup>Ge, <sup>103</sup>Rh, <sup>159</sup>Tb, <sup>175</sup>Lu i <sup>193</sup>Ir u koncentraciji od 2,7 µg/L. Multielementne otopine standarda u 5% (v/v) HNO<sub>3</sub>, prethodno pripremljene iz standardnih otopina elemenata koncentracije 1 g/L (PlasmaCAL, SCP Science, Kanada), korištene su za izradu radnih standarda za kalibracijske krivulje. Te su standardne otopine sadržavale 1% (v/v) HNO<sub>3</sub> i 1% (v/v) etanola (Kemika, Hrvatska) kako bi se oponašao sadržaj etanola u uzorcima vina (10%). Analiza minerala je provedena na uređaju Optima DV 2000, Perkins Elmer, a primijenjena je modificiranom metodom prema Larcheru i Nicolini (2001.). Analizirane vrijednosti za udio metala predstavljaju prosječne vrijednosti dobivene dvjema metodama (ICP-OES i ICP-MS). Kako bi se utvrdio značaj razlika između pokusnih vina, provedena je jednosmjerna analiza varijance (engl. one-way ANOVA). Usporedba srednjih vrijednosti provedena je pomoću Duncan Multiple Range testa. Za statističku obradu podataka upotrijebljen je SAS v 9.3 statistički softvera (2012, SAS Institute Inc., Cary, NC, SAD).

## Rezultati i rasprava

Koncentracija kalija u analiziranim vinima kretala se od 413,67 (uzorak 9) do 671,33 mg/L (uzorak 1). Dobivene vrijednosti su nešto niže od onih koje su dobili Leder i sur. (2015.), a u skladu su s vrijednostima Vinković Vrček i sur. (2011.). Koncentracija natrija kretala se u rasponu od 7,33 (uzorak 5) do 36,83 (uzorak 5) mg/L. Dobivene vrijednosti su u skladu s istraživanjima Vinković Vrček i sur. (2011.) i Leder i sur. (2015.). Prema Pravilniku o proizvodnji vina Republike Hrvatske, maksimalna dozvoljena količina u vinima je 20 mg/L. Sadržaj kalcija u istraživanim uzorcima iznosio je od 53,8 (uzorak 1) do 86,67 (uzorak 5) mg/L. Dobivene vrijednosti su niže u odnosu na istraživanja Leder i sur. (2015.). Sadržaj magnezija varirao je od 84,0 (uzorak 6) do 133,0 (uzorak 9) mg/L što je u skladu s istraživanjima Banović (1996.).

Tablica 1. Usporedba srednjih vrijednosti koncentracije teških metala u istraživanim vinima (mg/L)

Uzorak br.	K	Na	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Al	Ni
1	671,33a	14,43d	53,8e	95,67cd	0,24fg	0,021b	0,32f	0,11ef	0,01f
2	653,33ab	15,7cd	59,9de	105,67b	0,26fg	0,015b	0,316f	0,15e	0,017d
3	610,67c	28,67b	65,83c	94,67cd	2,75a	0,0007b	0,86a	0,31d	0,018cd
4	631,33bc	17,43cd	54,37e	90,67cde	0,61e	0,016b	0,72b	0,29d	0,016d
5	627,33bc	36,83a	80,67a	93,0cde	1,51c	0,18a	0,721b	0,55b	0,022b
6	642,33b	21,17b	66,6c	84,0e	0,44ef	0,01b	0,49e	0,54b	0,013e
7	484e	15,77cd	66,5c	94,67cd	0,52e	0,032b	0,45e	0,12ef	0,016d
8	534,67d	7,33e	61,57cd	83,33de	0,14g	0,056b	0,63c	0,82ef	0,028a
9	413,67f	18,77c	71,8b	133,0a	2,13b	0,036b	0,54d	0,97a	0,0164d
10	497,67e	10,33e	59,9d	100,0cb	1,03d	0,038b	0,52d	0,48c	0,02c
Uzorak br.	Mn	Pb	Ba	V	Cr	Co	Mo	Cd	Sn
1	0,714f	0,0031e	0,033g	0,0008fg	0,031a	0,0019e	0,0016b	0,00011c	0,0032b
2	0,862e	0,0029e	0,036g	0,0015ef	0,063ab	0,0022d	0,0015c	0,00012c	0,00169e
3	1,233bc	0,0141a	0,071d	0,0018e	0,023ab	0,0026c	0,0017a	0,00024b	0,00296c
4	1,248b	0,0067c	0,050f	0,0015ef	0,095ab	0,0024d	0,00076e	0,00016bc	0,00455a
5	1,217c	0,0095b	0,107a	0,0064c	0,0116ab	0,0043a	0,00079e	0,00019bc	0,00183e
6	0,637h	0,0048d	0,102b	0,0039d	0,056b	0,0035b	0,00065f	0,00015c	0,00034h
7	0,732f	0,0066c	0,033g	0,0007g	0,0101ab	0,0022d	0,0016b	0,00024b	0,00068g
8	0,673g	0,0049d	0,029h	0,0006g	0,084ab	0,0022d	0,00028g	0,00024b	0,00147f
9	1,314a	0,013a	0,096c	0,0076b	0,011ab	0,0035b	0,00076e	0,00017bc	0,00211d
10	1,117d	0,0092b	0,061e	0,012a	0,011ab	0,0024c	0,0013d	0,00036a	0,00182e

\*srednje vrijednosti označene različitim slovima između sorata razlikuju se na razini  $p < 0,05$  korištenjem Duncan's multiple-range testa

Najnižu prosječnu vrijednost sadržaja željeza imao je uzorak 8 te je iznosio 0,14 mg/L, dok je kod uzorka 3 zabilježena najveća prosječna vrijednost od 2,75 mg/L. Mirabal-Gallardo i sur. (2018.) utvrdili su vrijednosti od 1,2 do 2,08 mg/L čileanskim vinima, dok su Đurđić i sur. (2017.) utvrdili raspon od 0,61 do 2,01 mg/L u srpskim vinima. Sadržaj željeza u hrvatskim vinima kretao se u rasponu od 0,809 do 5,524 mg/L (Banović i sur., 2009.), te od 1,76 do 4,09 mg/L (Leder i sur., 2005). Prema Pravilniku o proizvodnji vina Republike Hrvatske, maksimalna dozvoljena količina u vinima iznosi 10 mg/L. Sadržaj bakra kretao se od 0,007 (uzorak 3) do 0,178 mg/L (uzorak 5). Dobivene vrijednosti su u skladu s vrijednostima dobivenim i kod drugih istraživača (Banović i sur., 2009., Vinković Vrček i sur., 2011., Leder i sur., 2015.). Maksimalno dozvoljene vrijednosti u vinima su 1 mg/L (Pravilnik o proizvodnji vina RH).

Prosječni sadržaj cinka u istraživanim vinima kretao se od 0,32 (uzorak 2) do 0,86 (uzorak 3) mg/L. Dobivene vrijednosti su u skladu sa istraživanjima i drugih autora (Banović i sur. 2009., Vinković Vrček i sur., 2011., Leder i sur., 2015., Mirabal-Gallardo i sur., 2018., Đurđić i sur., 2017.). Prosječne vrijednosti aluminija u analiziranim vinima kretale su se od 0,082 (uzorak 8) do 0,99 (uzorak 9) mg/L. Dobiveni rezultati su u skladu s vrijednostima dobivenim u istraživanju Leder i sur. (2015.). Prema Pravilniku o proizvodnji vina Republike Hrvatske, maksimalna dozvoljena količina u vinima iznosi 10 mg/L. Prosječno zabilježene vrijednosti mangana kretale su se od 0,64 (uzorak 6) do 1,32 (uzorak 9) mg/L. Dobiveni rasponi vrijednosti u skladu su sa istraživanjima hrvatskih vina (Leder i sur., 2015.), makedonskih (Ivanova-Petropulus i sur., 2013.) te srpskih (Đurđić i sur., 2017.).

Prema analizi varijance vidljivo je da najveću prosječnu vrijednost olova od 0,015 mg/L ima uzorak 3, a najnižu prosječnu vrijednost od 0,00292 mg/L ima u uzorku 2. Dobivene

vrijednosti su niže od nekih prijašnjih dobivenih vrijednosti u hrvatskim vinima (Banović i sur., 2009., Vinković Vrček i sur., 2011., Leder i sur., 2015.). Koncentracija olova u svim ispitivanim uzorcima je ispod maksimalno dopuštene granice od 0,3 mg/L prema Pravilniku o proizvodnji vina Republike Hrvatske. Prosječni sadržaj barija u analiziranim vinima kretao se od 0,03 (uzorak 8) do 0,12 (uzorak 5) mg/L. Dobivene vrijednosti za sadržaj barija u ispitivanim vinima u skladu su s onima koje su dobili Vinković Vrček i sur. (2011) u hrvatskim vinima te Đurđić i sur. (2017) u srpskim vinima. Vanadij se prosječno kretao od 0,00062 do 0,012 mg/L. Najniža prosječna vrijednost zabilježena je u uzorku 8, dok je najviša zabilježena u uzorku 10. Prosječno zabilježene vrijednosti kroma kretale su se od 0,00562 (uzorak 6) do 0,0031 (uzorak 1) mg/L. Dobivene vrijednosti su niže od vrijednosti koje su zabilježne u istraživanjima Vinković Vrček i sur. (2011.) i Leder i sur. (2015.). Najviša dozvoljena koncentracija prema Pravilniku o proizvodnji vina Republike Hrvatske iznosi 0,1 g/L.

Prema analizi varijance je vidljivo da najveću prosječnu vrijednost kobalta od 0,00433 mg/L ima uzorak 5, a najnižu prosječnu vrijednost od 0,00192 mg/L ima uzorak 1. Utvrđene vrijednosti su u skladu s vrijednostima koje su dobili Vinković Vrček i sur. (2011.) i Leder i sur. (2015.) u hrvatskim vinima. Prosječno utvrđena vrijednost molibdena kretala se od 0,00028 (uzorak 8) do 0,00177 (uzorak 3) mg/L. Utvrđeno je u skladu sa istraživanjima na hrvatskim vinima (Vinković Vrček i sur., 2015.) te utvrđenim sadržajem prilikom istraživanja makedonskih vina (Ivanova-Petropulos i sur., 2013.). Sadržaj kadmija je iznosio od 0,00011 (uzorak 1) do 0,00036 (uzorak 10) mg/L što je u skladu s rezultatima Leder i sur. (2015) koji su detektirali u hrvatskim vinima koncentraciju kadmija od 0,0002 – 0,0008 mg/L. Prema Pravilniku o proizvodnji vina Republike Hrvatske dopuštena koncentracija kadmija je najviše 0,01 mg/L. Prosječna vrijednost sadržaja kositra kretala se u rasponu od 0,00034 (uzorak 6) do 0,004555 (uzorak 4) mg/L. Dobivene vrijednosti za sadržaj kositra u ispitivanim vinima niže su od onih koje su dobili Vinković Vrček i sur. (2011.) i Leder i sur. (2015.) u hrvatskim vinima, te Mirabal-Gallardo i sur. (2018.) u čileanskim vinima. Koncentracija arsena bila je ispod praga detekcije u svim ispitivanim uzorcima vina.

## Zaključak

Primjenom ICP-MS i ICP-OES metoda u vinima 'Graševina' uočene su značajne razlike po udjelu svih 19 analiziranih teških metala. Najmanje razlike uočene su u udjelima Cu, Cr i Co, a najveće po udjelima Ba, Mn i Sn. Udio toksičnih metala poput Pb, Cd i As u svim ispitivanim vinima bio je ispod maksimalno dopuštene granice prema standardima Pravilnika o proizvodnji vina Republike Hrvatske (NN 48/14) i prema standardima Međunarodne organizacije za vino i lozu (OIV, 2008.). Iz ove perspektive vina su zdravstveno ispravna. Analizom varijance u uzorku 5 za sadržaj pet metala (Na, Ca, K, Cu i Co) utvrđena je prosječno najviša srednja vrijednosti. U uzorku 5 zabilježena je najmanja prosječna vrijednost sedam metala: Na, Fe, Al, Ba, V, Mo i As.

## Literatura

- Álvarez M., Moreno I.M., Jos Á., Cameán A. M., González A. G. (2007). Differentiation of 'two Andalusian DO 'fino' wines according to their metal content from ICP-OES by using supervised pattern recognition methods. *Microchem. J.* 87(1): 72-76.
- Banović M. (1996). Uklanjanje teških metala upotrebom polimera kao alternativa "plavom bistrenju". Disertacija. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
- Banović M., Kirin J., Čurko N., Kovačević-Ganić K. (2009). Influence of vintage on Cu, Fe, Zn, and Pb content in some croatian red wines. *Czech J. Food Sci.* 29: 401-403.
- Belitz H. D., Grosch W., Schieberl P. (2009). *Food Chemistry*. 4th revised and extended ed. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag Berlin.

- Cozzolino D. (2015). The role of visible and infrared spectroscopy combined with chemometrics to measure phenolic compounds in grape and wine samples. *Molecules*. 20 (1): 726-37. Raspoloživo: doi:10.3390/molecules20010726.
- Đurđić S., Pantelić M., Trifković J., Vukojević V., Natić M., Tešić Ž., Mutić J. (2017). Elemental composition as a tool for the assessment of type, seasonal variability, and geographical origin of wine and its contribution to daily elemental intake. *RSC Adv*. 7,: 2151-2162.
- Froni F., Vignando M., Aiello M., Parma V., Paoletti M.G., Squartini A., Rumiati R. I. (2017). The smell of terroir! Olfactory discrimination between wines of different grape variety and different terroir. *Food Qual Prefer*. 58: 18-23.
- Grindlay G., Mora J., Grasa L., de Loos-Vollebregtb M. T. C. (2011). Atomic spectrometry methods for wine analysis: A critical evaluation and discussion of recent applications. *Anal. Chim. Acta*. 691: 18-32.
- He Z. L., Yang X. E., Stoffella P. J. (2005). Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J. Trace Elem. Med Biol*. 19: 125-140.
- Ivanova-Petropulos V., Wiltsche H., Stafilov T., Stefova M., Motter H., Lankmayr E. (2013). Multielement analysis of macedonian wines by Inductively coupled Plasma-mass spectrometry (ICP-MS) and inductively coupled Plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) for their classification. *Maced. J. Chem. Chem. Eng*. 32: 265-281.
- Ivanova-Petropulos V., Jakobová S., Nedelkovski D., Pavlík V., Balážová Ž., Hegedús O. (2015). Determination of Pb and Cd in Macedonian wines by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). *Food Anal. Methods*. 8 (8): 1947-1952. Raspoloživo: doi:10.1007/s12161-014-0062-x.
- Larcher R., Nicolini G. (2001). Survey of 22 mineral elements in wines from Trentino (Italy) using ICP-OES. *Ital. J. Food Sci*. 13: 233-241.
- Leder R., Kubanović V., Petric I. V., Vahčić N., Banović M. (2015). Chemometric prediction of the geographical origin of Croatian wines through their elemental profiles. *J Food Nutr Res*. 54: 229-238
- Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić I., Preiner D., Zdunić G., Bubola M., Stupić D., Andabaka Ž., Marković Z., Šimon S., Žulj Mihaljević M., Ilijaš I., Marković D. (2015). Zelena knjiga: Hrvatske izvorne sorte vinove loze. Zagreb, Hrvatska: Državni zavod za zaštitu prirode.
- Mirabal-Gallardo Y., Caroca-Herrera M. A., Muñoz L., Meneses M., Laurie V. F. (2018). Multi-element analysis and differentiation of Chilean wines using mineral composition and multivariate statistics. *Cien. Inv. Agr*. 45: 181-191.
- Pohl P. (2007). What do metals tell us about wine? *Trends Anal. Chem*. 26: 941-949. Raspoloživo: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.07.005>
- Pravilnik o proizvodnji vina. Narodne novine Republike Hrvatske (NN 2/95, 237/08, 48/14)
- Ribereau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006) Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of Wine, Stabilisation and Treatments. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd.
- Tariba B. (2011). Metals in Wine -Impact on Wine Quality and Health Outcomes. *Biol. Trace Elem. Res*. 144: 143-156.
- Vinković Vrček I., Bojić M., Žuntar I., Mendaš G., Medić-Šarić M. (2011). Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chem*. 124: 354-361.
- Voica C. Dehelean A. Pamula A. (2009). Method validation for determination of heavy metals in wine and slightly alcoholic beverages by ICP-MS. *J Phys Conf Ser*. 182: 1-5. Rapoloživo: DOI: 10.1088/1742-6596/182/1/012036.



## **Metal concentration in wines of 'Graševina bijela' variety from viticulture subregion Hrvatsko Podunavlje**

### **Abstract**

Graševina is the most important and most widespread grapevine variety in Republic of Croatia. In addition to all the valuable compounds, wine contains heavy metals which in high concentrations can affect the quality of the wine. Their content in grapes and wine depends on the variety, climate, soil, and the application of agricultural practices in the vineyard and technological processes in production. Samples of 10 'Graševina' wines from the subregion Hrvatsko Podunavlje (winegrowing area of Baranja, Erdut and Srijem) produced from the grape harvested in 2017 were selected for testing. With ICP-MS and ICP-OES methods heavy metal concentrations was determined. The results showed that all analyzed wines meet the prescribed standards of the Croatian Wine Production Regulation (NN 48/14)

**Key words:** white wine, Graševina, heavy metals, ICP-MS, ICP-OES

## Usporedba temperature mezoklime vinograda i mikroklimе trsa

Marina Anić, Petra Rajić, Mirela Osrečak, Marko Karoglan

*Agronomski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska  
(mseparovic@agr.hr)*

### Sažetak

Temperatura zraka jedan je od glavnih ekoloških čimbenika koji utječu na dozrijevanje grožđa te kvalitetu grožđa i vina. Temperaturna mjerenja mezoklime daju sliku klimatskih uvjeta godine i određenog vinogradarskog položaja, ali su nedovoljna u objašnjavanju specifičnih uvjeta u kojima grožđe dozrijeva, stoga je cilj ovog istraživanja prikupiti i usporediti vrijednosti temperature zraka unutar zone grožđa te na visini od 2 m u vinogradu. Rezultati istraživanja pokazali su da je temperatura zraka unutar zone grožđa tijekom dana bila u prosjeku 1.8 °C toplija u odnosu na 2 m visine, te samim time ukazali na potrebu za mjerenjem temperature mikroklimе trsa kako bi se bolje objasnile promjene u dozrijevanju grožđa određene vegetacijske godine.

**Ključne riječi:** mezoklima vinograda, mikroklima trsa, temperatura zraka

### Uvod

Mikroklima trsa predstavlja temperaturu zraka, relativnu vlažnost zraka, brzinu vjetra i sunčevo zračenje unutar zone grožđa, koji snažno utječu na fiziologiju vinove loze, te na kvalitetu grožđa. Mikroklima trsa pod utjecajem je mnogih faktora u vinogradu, kao što su uzgojni oblik (Smart, 1985.), smjer pružanja redova u vinogradu (Hunter i sur., 2016.), bujnost trsa (Asproudi i sur., 2016.), pozicija grozdova na trsu te različiti ampelotehnički zahvati u vinogradu (Smart, 1985., Bubola i sur., 2019.). Mezoklima vinograda predstavlja klimu određenog vinogorja, položaja i vinograda, mjeri se na visini od 2 m i ovisi o nadmorskoj visini, nagibu terena i udaljenosti od vodenih površina, a obično se mjeri na standardnim meteorološkim stanicama. Temperatura je jedan od najvažnijih klimatskih čimbenika koji utječe na nakupljanje ili razgradnju različitih biokemijskih spojeva u grožđu, kao što su šećeri, organske kiseline i sekundarni metaboliti, tj. polifenolni i aromatski spojevi, koji u konačnici utječu na kakvoću grožđa (Rienth i sur., 2016.). Greer i Weedon (2013.) pokazali su da visoke temperature zraka mogu utjecati na intenzitet fotosinteze, što može imati ozbiljne učinke na dozrijevanje grožđa, pa tako i na sastav grožđa. Visoke temperature zraka mogu usporiti dozrijevanje grožđa, smanjiti koncentraciju ukupne kiselosti te sintezu metabolita, osobito fenolnih spojeva (Spayd i sur., 2002.), što može utjecati na organoleptička svojstva vina (van Leeuwen i Darriet, 2016.). Razlika između dnevnih i noćnih temperatura osobito je važna jer može imati značajan utjecaj na sintezu antocijana (Kliwer i Torres, 1972.). Iako su mjerenja sa tradicionalnih meteoroloških postaja uniformirana kako bi se što preciznije i objektivnije uspoređivala mjerenja sa različitih lokacija te su kao takva prikladna za karakterizaciju klimatskih uvjeta vegetacijske sezone, ona ne predstavljaju specifične mikroklimatske uvjete kojima je grožđe izloženo, a posebno temperaturu zraka koja okružuje grožđe. Senzori koji su pozicionirani u razini grožđa, unutar lisne zone trsa, mogu pružiti bolje informacije korisne za daljnje razumijevanje uvjeta kojima su grozdovi izloženi. Cilj rada bio je usporediti mjerenja temperature unutar vinograda tijekom 2018. godine na razini mikroklimе trsa i mezoklimе vinograda, kako bi prikazali povezanost temperaturnih mjerenja izravno mjerenim unutar zone grožđa, i u vinogradu na visini od 2 m.

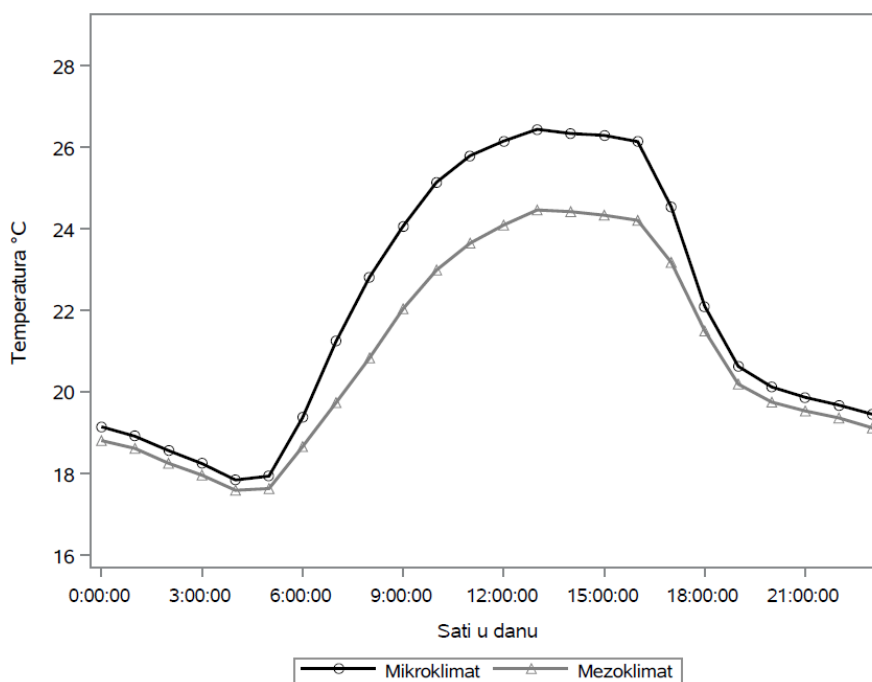
## Materijal i metode

Istraživanje je provedeno 2018. godine na Vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Jazbina, Agronomski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Zagrebačko vinogorje, na sorti Merlot. Redovi su orijentirani sjeveroistok-jugozapad, s 2.1 m razmakom između redova i 1.2 m između trsova, što čini sklop od 4000 trsova/ha. Mezoklimatska i mikroklimatska mjerenja kontinuirano su se pratila tijekom perioda vegetacije. Senzor za mjerenje temperature mezoklime postavljen je na 2 m visine na početku reda, dok je senzor za mjerenje mikroklime trsa postavljen unutar zone grožđa istog reda, na visini od 0.8 m. Temperature mezoklime i mikroklime bilježile su se jednom u sekundi senzorom YOUNG 41382 RH / T sa zaštitom od zračenja, koji su povezani sa datalogerom Campbell Scientific CR-3000 3G sa solarnim punjenjem. Na temelju dobivenih podataka izračunate su srednje satne temperature te je prikazan dnevni hod temperatura. Prikupljeni podaci podijeljeni su i na srednje satne vrijednosti tijekom dana (od 8:00 do 19:00) i noći (od 19:00 do 08:00) i odvojeni su po temperaturnim intervalima. Podaci su prikazani od 12.06., što predstavlja fenofazu zametanja bobica (E-L 27), sve do berbe 19.09. (E-L 38).

## Rezultati i rasprava

Rezultati istraživanja razlika u temperaturi mezoklime vinograda i mikroklime trsa u razdoblju od fenofaze zametanja bobica do berbe 2018. godine na pokušalištu Jazbina prikazani su u Grafikonu 1. i Tablici 1.

Uspoređujući mezoklimu, tj. temperaturu zraka na 2 m u odnosu na mikroklimu, tj. temperaturu zraka unutar zone grožđa, od fenofaze zametanja bobica do berbe, u vremenu od 08:00 do 19:00, ustanovljeno je da je temperatura u zoni grožđa u prosjeku bila za 1.8 °C viša u odnosu na temperaturu okolnog zraka na 2 m visine. Razlika u temperaturi mikroklime i mezoklime u vremenu od 19:00 do 08:00 bila je manje izražena, gdje je temperatura u zoni grožđa u prosjeku bila za 0.45 °C viša u odnosu na temperaturu okolnog zraka na 2 m visine.



Grafikon 1. Prosječni dnevni hod temperature zraka mikroklimatske trsa i mezoklimatske vinograda u razdoblju od fenofaze zametanja bobica do berbe 2018. godine na pokušalištu Jazbina

Da bi se bolje prikazali temperaturni uvjeti unutar zone grožđa i na visini od 2 m, zabilježena je pojava definiranih temperaturnih raspona tijekom dnevnih i noćnih sati, a koji su važni za nakupljanje šećera i sintezu antocijana u grožđu, izračunavanjem postotka vremena kada su mezoklima vinograda i mikroklima trsa bili izloženi definiranim rasponima (Tablica 1). Istraživanje je pokazalo kako su grozdovi tijekom dana 14.3 % vremena (155 sati) bili izloženi temperaturama iznad 30 °C, dok je temperatura mezoklime zabilježila svega 2.3 % (26 sati) vremena iznad 30 °C. Razlika između izloženosti mezoklime vinograda i mikroklima trsa visokim noćnim temperaturama bila je slabije izražena.

U ovom istraživanju mjerenje temperature zraka na 2 m visine unutar vinograda nije pokazalo stvarne temperature uvjete kojima su grozdovi izloženi, a koji imaju veliki utjecaj na sintezu različitih spojeva u grožđu, što u konačnici utječe i na kvalitetu grožđa i kasnije vina. Iako su prosječne dnevne temperature zraka i sume aktivnih temperatura dobivene sa meteoroloških postaja postavljenih u vinogradu na 2 m visine dragocjeni podaci za karakterizaciju vegetacijske sezone i klimatskih uvjeta položaja, oni nisu toliko bitni za fiziologiju grožđa kao postotak izloženosti određenim temperaturama (Spayd i sur., 2002.). Dnevne temperature iznad 30 °C mogu uzrokovati niz fizioloških smetnji, kao što je pojava opekline na bobicama, smanjenje fotosinteze i nakupljanje šećera, smanjenje vegetativnog i generativnog rasta trsa te smanjenje sinteze mnogih prekursora važnih u sintezi spojeva kao što su organske kiseline i sekundarni metaboliti (Keller, 2010., Hunter i Bonnardot, 2011., Greer i Weedon, 2013., Rienth i sur., 2016.). Visoke dnevne i noćne temperature mogu inhibirati sintezu i pospješiti razgradnju postojećih antocijana, dok su optimalne temperature za sintezu antocijana dnevne temperature između 20 i 25 °C i noćne temperature između 10 i 15 °C (Spayd i sur., 2002., Chorti i sur., 2010., Hunter i Bonnardot, 2011., Pastore i sur., 2017.).

Tablica 1. Izloženost mezoklime vinograda i mikroklima trsa važnim temperaturnim rasponima u razdoblju od fenofaze zametanja bobica do berbe 2018. godine na pokušalištu Jazbina

	Mikroklima		Mezoklima	
	Broj sati	%	Broj sati	%
<i>Dan (08:00-19:00)</i>				
< 20 °C	163	15,0	249	22,9
20 °C - 25 °C	326	30,0	423	38,9
25 °C - 30 °C	441	40,7	386	35,6
> 30 °C	155	14,3	26	2,3
<i>Noć (19:00-08:00)</i>				
< 15 °C	103	8,1	139	11,0
15 °C - 20 °C	622	49,0	648	51,1
20 °C - 25 °C	497	39,2	464	36,6
> 25 °C	44	3,5	17	1,3

Greer i Weedon (2013.) pokazali su kako je temperatura unutar zone grožđa za 2 °C viša u odnosu na temperaturu okolnog zraka u vinogradu. U istraživanju Quinones i sur. (2020.), srednja dnevna minimalna temperatura unutar zone grožđa bila je za 1.2 °C niža u odnosu na temperaturu mezoklime vinograda, dok je srednja dnevna maksimalna temperatura unutar zone grožđa bila za 2 °C viša u odnosu na mezoklimu vinograda. Mates i sur. (2014.) pokazali su da je temperatura mikroklima trsa za 0,8 °C viša od temperature mezoklime vinograda i to samo u jednoj od dvije godine istraživanja, dok su relativna vlažnost zraka i sunčevo zračenje pokazali značajne razlike između mikroklima i mezoklime, zbog lišća koji zasjenjuje grožđe i smanjuje mogućnost cirkulacije zraka. Između razine tla i lisne zone

vladaju kompleksni okolinski uvjeti koji stvaraju veliku varijabilnost temperaturnih uvjeta unutar zone grožđa, kao što su sunčevo zračenje, relativna vlažnost zraka te brzina i smjer puhanja vjetra (Sinoquet i Le Roux, 2010., Quinones i sur., 2020.). Oblik i gustoća lisne površine trsa također imaju važnu ulogu u temperaturnim uvjetima unutar zone grožđa. Naime, tijekom intenzivnog rasta lisne zone dolazi do prijenosa topline između lišća i okolnog zraka, što može utjecati na povećanje temperature zraka unutar zone grožđa (Quinones i sur., 2020.). Manja razlika u temperaturi unutar zone grožđa i okolnog zraka tijekom noći može se objasniti nemogućnosti lišća za dugim zadržavanjem topline dobivenu tijekom dana, te tijekom noći dolazi do otpuštanja te topline, što ovisi i o intenzitetu puhanja vjetra (Quinones i sur., 2020.).

Mjerenje razlike u temperaturi okolnog zraka i mikroklimе trsa ima veliku primjenu u razvoju modela koji objašnjavaju ponašanje trsa u uvjetima stresa uzrokovanog sušom, tj. u razvoju indeksa za mjerenje vodnog stresa u cilju planiranja navodnjavanja. Biljka koja nije pod vodnim stresom optimalno transpirira, što rezultira hlađenjem biljke i nižom temperaturom mikroklimе trsa u odnosu na temperaturu okolnog zraka. Ukoliko dolazi do pojave deficita vode u tlu, intenzitet transpiracije se smanjuje, a temperatura mikroklimе trsa raste u odnosu na temperaturu okolnog zraka (Jackson, 1982.).

### Zaključak

Istraživanje je pokazalo kako je temperatura mikroklimе trsa tijekom dana bila u prosjeku 1.8 °C toplija od mezoklimе vinograda, dok su temperaturne razlike tijekom noći bile manje izražene. Razlike pokazuju kako podaci dobiveni sa meteoroloških postaja instaliranih u ili neposrednoj blizini vinograda, mjerenjem temperature zraka na visini od 2 m, iako dobri za karakterizaciju određenog vinograda i položaja, ne daju realnu sliku onoga što se događa u neposrednoj blizini grozdova. Tek mjerenjem mikroklimatskih uvjeta mogu se objasniti fiziološke promjene vinove loze, što u konačnici utječe na kvalitetu samog grožđa.

### Napomena

Ovo istraživanje financirano je projektom HrZZ (VITICLIC) (PKP-2016-06-2975) koji financira Fond za zaštitu okoliša i energetska učinkovitost u okviru Vladinog programa (Ministarstvo okoliša i energetike i Ministarstvo znanosti i obrazovanja) za Promociju istraživačkih i razvojnih aktivnosti na polju klimatskih promjena za razdoblje 2015.-2016.

### Literatura

- Asproudi A., Petrozziello M., Cavalletto S., Guidoni S. (2016). Grape aroma precursors in cv. Nebbiolo as affected by vine microclimate. *Food Chemistry*. 15:947-956.
- Bubola M., Lukić I., Radeka S., Sivilotti P., Grozić K., Vanzo A., Bavčar D., Lisjak K. (2019). Enhancement of Istrian Malvasia wine aroma and hydroxycinnamate composition by hand and mechanical leaf removal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99:904-914.
- Chorti E., Guidoni S., Ferrandino A., Novello V. (2010). Effect of Different Cluster Sunlight Exposure Levels on Ripening and Anthocyanin Accumulation in Nebbiolo Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*. 61:23-30.
- Greer D. H., Weedon M. M. (2013). The impact of high temperatures on *Vitis vinifera* cv. Semilion grapevine performance and berry ripening. *Frontiers in Plant Science*. 4:1-5.
- Hunte, J. J., Bonnardot V. (2011). Suitability of Some Climatic Parameters for Grapevine Cultivation in South Africa, with Focus on Key Physiological Processes. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 32:137-154.
- Hunter J. J., Volschenk C. G., Zorer R. (2016). Vineyard row orientation of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz/101-14 Mgt: Climatic profiles and vine physiological status. *Agricultural and Forest Meteorology*. 228:104-119.

- Jackson R. D., Idso S. B., Reginato R. J., Pinter P. J. (1981). Canopy temperature as a crop water stress indicator. *Water Resources Research*. 17:1133-1138.
- Keller, M. (2010). Managing grapevines to optimise fruit development in a challenging environment: a climate change primer for viticulturists. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 16:56-69.
- Kliwer W. M., Torres R. E. (1972). Effect of Controlled Day and Night Temperatures on Grape Coloration. *American Journal of Enology and Viticulture*. 23:71-77.
- Matese A., Crisci A., Di Gennaro S. F., Primicerio J., Tomasi D., Marcuzzo P., Guidoni S. (2014). Spatial variability of meteorological conditions at different scales in viticulture. *Agricultural and Forest Meteorology*. 189:159–167.
- Pastore C., Dal Santo S., Zenoni S., Movahed N., Allegro G., Valentini G., Filippetti I., Tornielli G. B. (2017). Whole Plant Temperature Manipulation Affects Flavonoid Metabolism and the Transcriptome of Grapevine Berries. *Frontiers in Plant Science*. 8:1-16.
- Quiñones A. J. P., Hoogenboom G., Gutiérrez M. R. S., Stöckle C., Keller M. (2020). Comparison of air temperature measured in a vineyard canopy and at a standard weather station. *PLoS ONE*. 15(6):1-20.
- Rienth M., Torregrosa L., Sarah G., Ardisson M., Brillouet J. M., Romieu C. (2016). Temperature desynchronizes sugar and organic acid metabolism in ripening grapevine fruits and remodels their transcriptome. *Bmc Plant Biology*. 16:1-23.
- Sinoquet H., Le Roux X. (2000). Short term interactions between tree foliage and the aerial environment: An overview of modelling approaches available for tree structure-function models. *Annals of Forest Science*, 57(5):477–496.
- Smart R. E. (1985). Principles of Grapevine Canopy Microclimate Manipulation with Implications for Yield and Quality- a Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36:230-239.
- Spayd S. E., Tarara J. M., Mee D. L., Ferguson J. C. (2002). Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53:171-182.
- van Leeuwen C., Darriet P. (2016). The impact of climate changes on viticulture and wine quality. *Journal of Wine Economics*. 11:150-167.

## Comparison of temperature conditions of the mesoclimate of the vineyard and microclimate of the vine

### Abstract

The temperature is one of the main ecological conditions that affect the ripening of grapes and the quality of grapes and wine. Temperature measurements of the mesoclimate show climatic conditions of the year and of the particular vineyard position, but are insufficient in explaining the specific conditions in which grapes ripen, so the aim of this study is to collect and compare measurements of temperature within the grape zone and at a height of 2 m in the vineyard. The results showed that the temperature within the grape zone during the day was in average 1.8 °C warmer than at 2 m, and that there is a need to measure the temperature of the microclimate to better explain the changes in grape ripening of a particular growing year.

**Key words:** vineyard mesoclimate, canopy microclimate, air temperature

## Relationship between some sensory attributes and overall impression of Malvazija istarska wines produced with different vinification techniques

Ena Bestulić<sup>1</sup>, Sara Rossi<sup>1</sup>, Tomislav Plavša<sup>1</sup>, Marijan Bubola<sup>1</sup>, Anita Silvana Ilak Peršurić<sup>1</sup>, Ana Jeromec<sup>2</sup>, Sanja Radeka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Agriculture and Tourism, Karla Huguesa 8, 52440 Poreč, Croatia (ena@iptpo.hr)

<sup>2</sup>University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Viticulture and Enology, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia

### Abstract

The aim of this work was to determine the relationship between some aroma sensory descriptors and wine quality scores of white wines made from cv. Malvazija istarska (*Vitis Vinifera* L.). Six different vinification techniques were carried out: control treatment – fast grape processing without maceration (BP), fast grape processing with the addition of oenological tannin (BPT), pre-fermentative cold 1-day maceration (MM1), 7 days maceration (MM7), 21 days maceration (MM21) and vinification of dried grapes (MP) of cv. Malvazija istarska. Sensory profile of wine samples was obtained using both quantitative descriptive analysis (QDA) and 100 points O.I.V/U.I.O.E. evaluation method. The results showed a positive correlation between the presence of fruit and floral aroma attributes and overall wine impression. All observed treatments contributed to the positive effect on fruit and floral aromatic profile and overall wine impression in respect to control treatment.

**Key words:** sensory analysis, vinification techniques, aroma attributes, overall impression, Malvazija istarska

### Introduction

The quality of white wines is mostly related to its aromatic profile (Ayestarán et al., 2019). Grape condition and variety, yeast strain, vinification technique and wine maturation and storage are important factors affecting the final aromatics (Styger et al., 2011). In order to enhance the aroma complexity of wine different vinification treatments may be conducted. Since numerous aroma precursors are located in grape skin, extended skin contact increases the level of volatiles consequently affecting aroma profile (Gambetta et al., 2014) but in order to avoid intense phenol extraction while positively affecting terpenic content, cold maceration may be also applied (Herjavec et al., 2008; Radeka et al., 2008). Prolonged sun exposure changes the structure of berry skin wall and results in the greater release of grape aromatics into the wine (Genovese et al., 2007). The addition of oenological tannin also presents a method to affect overall wine quality by preventing the oxidation and improving sensory attributes (Sanz et al., 2008). Sensory analysis presents the evaluation method used for the assessment of sensory characteristics and providing an overall impression of wine quality (Jackson, 2017). Using sensory evaluation methods such as Quantitative descriptive analysis (QDA) that is widely used for quantitative characterization of wines it is possible to carry out a thorough evaluation of sensory attributes and to obtain a final aromatic profile (Cadot et al., 2010). International Organization of Vine and Wine (OIV) 100-point method consists of predefined categories allowing assessors to rank wines providing a total score of each wine sample (Guld et al., 2020). Malvazija istarska (*Vitis Vinifera* L.) is the most widespread white native variety of Istria region (Croatia) where it represents the majority of total white wine production (Lukić et al., 2008). Fast grape processing of this variety results in dry wines with characteristic rich fruit and floral aromas (Radeka et al., 2008). Radeka

(2008.) also reported the increase of free and bound monoterpenes in wines that were subjected to skin contact and proposed the use of different maceration techniques to enhance varietal aromatic potential of this variety. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of different vinification techniques on the presence of desirable sensory attributes and how it correlates with total scores obtained through wine sensory evaluation.

## Materials and methods

The grapes of cv. Malvazija istarska (*Vitis vinifera* L.) were harvested in 2018 in Western Istria (Croatia). Harvest was conducted at the technological maturity (21.6° Brix, 5.3 g/L of total acidity expressed as tartaric acid, and pH 3.56) while a certain amount was left on vine for the purpose of producing dried grapes (23.2° Brix, 4.5 g/L of total acidity expressed as tartaric acid, and pH 3.72). The vinification process was performed at the experimental cellar of the Institute of Agriculture and Tourism Poreč. Six different vinification techniques were carried out: fast grape processing without maceration – control treatment (BP), fast grape processing with the addition of oenological tannin (BPT), maceration treatments of different duration periods: pre-fermentative cold one day (MM1), seven days (MM7) and twenty one day (MM21) and vinification treatment of dried grapes (MP). Each treatment was inoculated with 30 g/hL of selected dry yeast (Fermol Arome Plus, *Saccharomyces cerevisiae*, AEB) and carried out in triplicate in stainless steel 100 L vats at the maceration/fermentation temperature of 16±0.5 °C with treatment MM1 being subjected to the temperature of 10±0.5 °C while on maceration for one day. Oenological tannin (Fermotan Tanin Blanc, AEB) was added in a dose of 10 g/hL in a clarified must and 5 g/hL at the last third of the alcoholic fermentation. *Sensory evaluation* was performed six months after the alcoholic fermentation at the Institute of Agriculture and Tourism Poreč in a room designed in accordance with the *ISO 8589* standard (ISO 3591,1997.). Evaluation was performed by a panel of five trained certified tasters, all of them highly experienced in Malvazija istarska wine sensory evaluation. Wine samples of 200 mL were served in coded standard wine tasting glass (ISO 3591,1997.) and previously cooled at the temperature of 12 °C. Quantitative descriptive analysis and 100 points O.I.V/U.I.O.E. evaluation method were conducted in order to obtain quality assessment of six different wine samples. For QDA tasters used a 10-point structured scale to rate the intensity of each aroma attributes, their groups and overall impression score (0=attribute not perceptible, 10=attribute strongly perceptible). Using 100 points O.I.V/U.I.O.E. evaluation method tasters evaluated and ranked wine appearance, aroma and taste and provided a total score. Samples were presented in three replications and evaluated in random order. *Statistical analysis* was performed using Statistica 10.0. Software (Stat-Soft Inc. Tulsa, OK). Fischer's least significant difference test (LSD) was performed using one-way analysis of variance (ANOVA). Pearson's correlation analysis was used to investigate relationship between two variables, the presence of sensory attributes obtained through QDA and the total wine score obtained with 100 point method. Results were presented using Pearson's correlation coefficient (*r*) that ranges in value between -1 to +1 showing the direction and strength of two variables.

## Results and discussion

As fruit and floral sensory attributes mostly determine the aromatic profile of fresh Malvazija istarska wines, Figure 1. shows the presence of some fruit and floral attributes obtained through QDA in all observed treatments. Regarding both floral and fruit group of attributes, MP treatment was significantly different from other treatments at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  level of significance and was valued with the highest points. Obtained results were as expected since over-ripeness affects the aromatic composition by intensifying fruit and floral sensory attributes (Genovese et al., 2007). Regarding maceration treatments, MM21 and MM1 did



not significantly differ from one another and were valued with the higher points than MM7. Better sensory impression of MM1 treatment in respect to MM7 is due to a lower pre-fermentative maceration temperature (10 °C) positively affecting the terpenic content (Radeka et al., 2008) while in the case of MM21 the length of skin contact had the most significant impact. The use of oenological tannin also affected the presence of some sensory attributes such as papaya that were not detected in other treatments, except for MP. That is in accordance with Sonni (2011.) who reported that tannin addition regulates the oxygen level and consequently preserves ester content that is mostly responsible for fruit attributes. Floral attributes that stood out as most dominant are acacia, elderflower and linden while green apple, peach, apricot and banana were the most dominant fruit attributes in all observed treatments. This results are in agreement with the ones obtained by Radeka (2015.) who noted the presence the same sensory attributes in Malvazija istarska fresh wines. Control treatment (BP) showed the significantly lowest presence of fruit group of attributes in respect the others treatments.

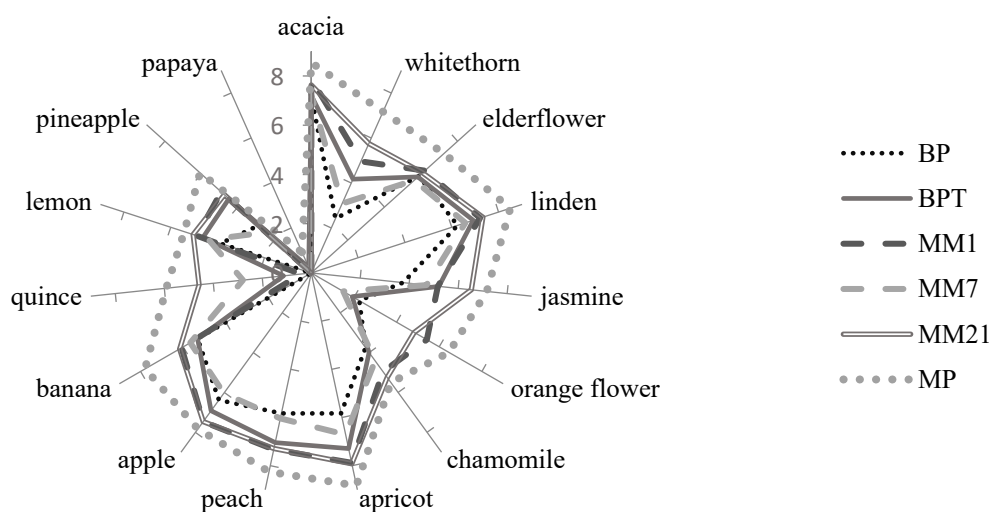


Figure 1. Quantitative descriptive analysis (QDA) results showing the presence of aroma attributes between different vinification techniques of Malvazija istarska wines

Results of 100 points O.I.V/U.I.O.E. evaluation method as presented in Table 1. show that all treatments achieved high scores which indicate the presence of positive and desirable fruit and floral attributes. All treatments except MM7 were significantly different from control treatment (BP) that achieved lowest results. MP treatment resulted in significantly highest scores, MM21 and MM1 followed with slightly lower results with no significant differences between those two treatments.

Table 1. Total score obtained from five tasters using the 100 points O.I.V/U.I.O.E. sensory evaluation method for six different vinification techniques

	BP	BPT	MM1	MM7	MM21	MP
Total score	81.75±0.25 <sup>Dd</sup>	83.16±0.70 <sup>Cc</sup>	85.16±0.38 <sup>Bb</sup>	82.08±0.29 <sup>Dd</sup>	85.83±0.52 <sup>Bb</sup>	89.33±0.38 <sup>Aa</sup>

Total score mean values ± standard deviations, n=5. Capital letters represent significant differences at  $p \leq 0.1$  and lower case letters at  $p \leq 0.05$  level in accordance with Least Significant Differences (LSD) test.

Pearson's correlation coefficient between the average values of both fruit and floral group of attributes and total 100-points score is shown in Figure 2. Obtained data shows a positive linear trend between these two observed variables. QDA overall wine impression scores

(BP=7.92, BPT=8.38, MM1=8.71, MM7=7.89, MM21=8.83, MP=9.58) and total 100 points score also showed a very strong positive correlation ( $r=0.98$ ) while the correlation of specific sensory attributes and total score ranged between  $r=0.76$  and  $r=0.99$  (moderate to very strong) being lowest in case of quince and papaya.

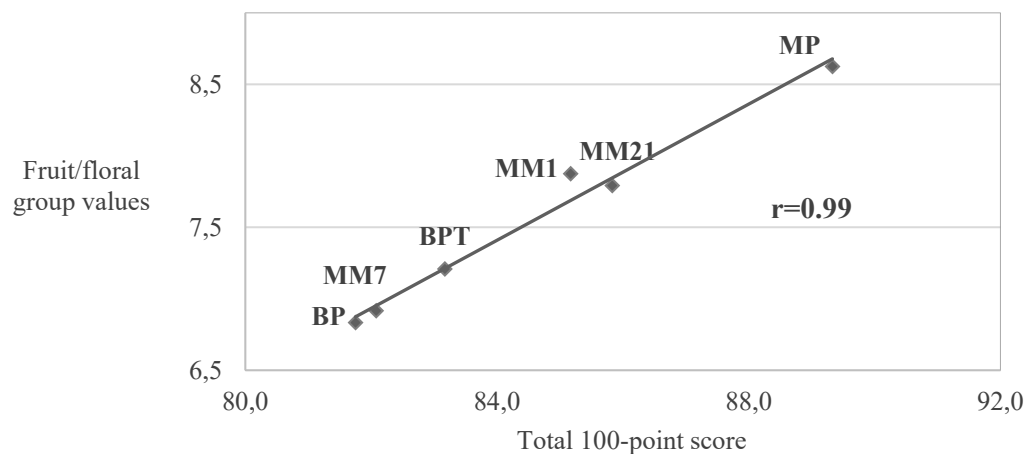


Figure 2. Scatter plot of average values of fruit and floral groups of attributes in correlation with the 100-points total score showing very strong/perfect positive linear correlation ( $r=0.99$ )

## Conclusion

The results showed positive correlation between the data obtained from QDA and 100-point evaluation method. Wines produced with technologies different from fast grape processing that is mostly used for Malvazija istarska wine production, achieved the best results during sensory evaluation. Vinification treatment of dried grape and maceration treatment of 1 and 21 day resulted in highest scores which indicate the positive effect of using different vinification techniques such as low pre-fermentation temperature, prolonged maceration and dried grapes vinification on desirable sensory attributes and overall wine quality of Malvazija istarska wines.

## Acknowledgment

This work has been supported by the Croatian Science Foundation under the project „Influence of different vinification technologies on the qualitative characteristics of wines from Croatian autochthonous varieties: the role of wine in human diet“ - VINUM SANUM (IP-2018-01-5049); 2018-2022.

## References

- Arroyo, T., Lozano, J., Cabellos, J. M., Gil-Diaz, M., Santos, J., Horrillo, M. C., 2009. Evaluation of Wine Aromatic Compounds by a Sensory Human Panel and an Electronic Nose. *J. Agric. Food Chem.* 57, 11543–9.
- Ayestarán, B., Martínez-Lapuente, L., Guadalupe, Z., Canals, C., Adell, E., Vilanova, M., 2019. Effect of the winemaking process on the volatile composition and aromatic profile of Tempranillo Blanco wines. *Food Chem.* 276, 187–194.
- Cadot, Y., Caillé, S., Samson, A., Barbeau, G., Cheynier, V., 2010. Sensory dimension of wine typicality related to a terroir by Quantitative Descriptive Analysis, Just About Right analysis and typicality assessment. *Anal. Chim. Acta* 660, 53–62.
- Gambetta, J. M., Bastian, S. E. P., Cozzolino, D., Jeffery, D. W., 2014. Factors influencing the aroma composition of Chardonnay wines. *J. Agric. Food Chem.* 62, 6512–6534.

- Genovese, A., Gambuti, A., Piombino, P., Moio, L., 2007. Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine. *Food Chem.* 103, 1228–1236.
- Gonzalez-Viñas, M. A., Perez-Coello, M. S., Cabezudo, M. D., Martin-Alvarez, P. J., 1998. Sensory Analysis of Aroma Attributes of Young Airén White Wines During Storage in the Bottle. *J. Food Qual.* 21, 285–297.
- Guld, Z., Sárdy, D. N., Gere, A., Rácz, A., 2020. Comparison of sensory evaluation techniques for Hungarian wines. *J. Chemom.* 34, e3219.
- Herjavec, S., Jeromel, A., Prusina, T., Maslov, L., 2008. UTJECAJ HLADNE MACERACIJE NA KEMIJSKI SASTAV VINA ŽILAVKA. *J. Cent. Eur. Agric.* 9, 505–510.
- ISO. Sensory analysis. Apparatus wine-tasting glass. ISO 3591-1997, Group B (1997.)
- Jackson, R. S., 2017. *Wine Tasting: A Professional Handbook*, 3rd Edition. ed. Academic Press, Amsterdam.
- Lukić, I., Plavša, T., Sladonja, B., Radeka, S., Peršurić, Đ., 2008. Aroma Compounds as Markers of Wine Quality in the Case of Malvazija Istarska Young Wine. *J. Food Qual.* 31, 717–735.
- Radeka, S., Herjavec, S., Peršurić, Đ., Lukić, I., Sladonja, B., 2008. Effect of Different Maceration Treatments on Free and Bound Varietal Aroma Compounds in Wine of *Vitis vinifera* L. cv. Malvazija istarska bijela. *Food Technol. Biotechnol.* 46, 86–92.
- Radeka, S., Lukić, I., Bavčar, D., Vanzo, A., Lisjak, K., 2015. Karakterizacija različitih stilova vina Malvazije istarske proizvedenih u hrvatskoj i slovenskoj Istri na osnovu deskriptivne senzorne analize vina. *Book Proc. 50th Croat. 10th Int. Symp. Agric.* 510.
- Sanz, M., Martínez-Castro, I., Moreno-Arribas, M.V., 2008. Identification of the origin of commercial enological tannins by the analysis of monosaccharides and polyalcohols. *Food Chem. - FOOD CHEM* 111, 778–783.
- Sonni, F., Chinnici, F., Natali, N., Riponi, C., 2011. Pre-fermentative replacement of sulphur dioxide by lysozyme and oenological tannins: Effect on the formation and evolution of volatile compounds during the bottle storage of white wines. *Food Chem.* 129, 1193–1200.
- Styger, G., Prior, B., Bauer, F.F., 2011. Wine flavor and aroma. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38, 1145.

## **Povezanost između pojedinih senzornih atributa i ukupnog dojma vina sorte Malvazija istarska proizvedenih različitim vinifikacijskim tehnologijama**

### **Sažetak**

Cilj ovog rada bio je utvrditi povezanost između pojedinih senzornih atributa i ukupnog dojma vina sorte ‘Malvazija istarska’ (*Vitis Vinifera* L.). Provedeno je šest različitih vinifikacijskih tehnologija: kontrolni tretman – brza prerada (BP), tretman brze prerade sa dodatkom tanina (BPT), predfermentativna hladna maceracija (MM1), maceracija u trajanju od 7 dana (MM7) i 21 dan (MM21) te tretman vinifikacije prosušenog grožđa (MP) Malvazije istarske. Senzorni profil vina određen je i ocijenjen kvantitativnom deskriptivnom analizom (QDA) i O.I.V/U.I.O.E. metodom 100 bodova. Dobiveni rezultati ukazuju na pozitivnu korelaciju između prisutnosti pojedinih voćnih i cvjetnih atributa mirisa i ukupnog dojma vina. Svi provedeni tretmani pridonijeli su pozitivnom utjecaju na voćno-cvjetni aromatski profil i ukupan dojam vina u odnosu na kontrolni tretman.

**Ključne riječi:** senzorna analiza, vinifikacijske tehnologije, atributi mirisa, ukupan dojam, Malvazija istarska

## Samonikle voćne vrste otoka Korčule

Boris Duralija, Lovro Petković, Martina Skendrović Babojelić, Aleksandar Mešić, Dubravka Dujmović Purgar, Vesna Židovec, Tihomir Miličević

*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska  
(bduralija@agr.hr)*

### Sažetak

Otok Korčula nalazi se u južnom Jadranu i bogat je autohtonom florom u kojoj se nalaze i brojne samonikle voćne vrste. Ciljevi ovog rada bili su utvrditi zastupljenost samoniklih voćnih vrsta na otoku Korčuli koji nose plodove tijekom zimskog perioda te stanje i promjer plodova. Na lokalitetima obuhvaćenim ovim istraživanjem utvrđeno je kako su mirta, pasja ruža, planika, glog i trnina biljke koje su krajem prosinca i početkom siječnja imale plodove. Prisustvo velikog broja plodova na samoniklim voćnim vrstama u zimskom periodu može poslužiti u razvoju stvaranja novih proizvoda, kao dodatak turističkoj ponudi izvan glavne sezone te kao vrijedan biljni materijal za uređenje krajobraza.

**Ključne riječi:** samoniklo voće, bioraznolikost, održivost, promjer ploda, Mediteran

### Uvod

Klima otoka Korčule je mediteranska, a karakteriziraju je blage zime te suha i vruća ljeta (Bonacci i Ljubenkov, 2020.). Plodovi samoniklog voća imaju dugu tradiciju iskorištavanja na Dalmatinskim otocima kako za potrošnju u svježem stanju, tako i u vidu prerađevina. Najveći broj vrsta samoniklog voća donosi plodove tijekom ljeta i jeseni, dok je manji broj koji rađa plodovima koji se mogu brati tijekom zime. Neke od vrsta samoniklog voća koje na otoku Korčuli imaju zrele plodove u zimskom periodu su mirta (*Myrtus communis* L.), pasja ruža (*Rosa canina* L.), planika (*Arbutus unedo* L.), glog (*Crataegus monogyna* Jacq.) i trnina (*Prunus spinosa* L.). Mirta je aromatična ljekovita biljka, tipična za obalna područja mediteranskih regija (Giampieri i sur. 2020.). U Hrvatskoj raste u makiji svijetlih i prorijeđenih šuma alepskog bora i u šumi crnike, u asocijaciji sa ostalim tipičnim predstavnicima makije. Samonikla mirta raste na toplim i sunčanim područjima srednjeg i južnog dijela Jadrana, najviše rasprostranjena na Lošinju, Mljetu, Lastovu, Visu i Lokrumu (Grlić 2005.). Pasja ruža nalazi se u vlažnim mediteranskim šumama i na padinama sjeverne orijentacije (Brichet 2003.). Biljke pokazuju snažnu otpornost na teške uvjete okoliša kao što su stjenovita i siromašna tla te nagnuti tereni (Demir i Özkan, 2001.). Planika je široko rasprostranjena kao samonikla vrsta u mediteranskoj klimi, a u Hrvatskoj je rasprostranjena u cijelom obalnom području. Raste na sunčanim ili polusunčanim mjestima, ali nikad predaleko od mora zbog povoljne temperature i pogodne klime (Skendrović Babojelić i sur. 2020.). Planika je posebno rasprostranjena po srednjedalmatinskim i južnodalmatinskim otocima kao što su: Lastovo, Korčula, Brač, Vis, Mljet i dr. (Topić i sur. 2009.). Bijeli glog rasprostranjen je u Europi, Africi i Aziji (Nabavi i sur., 2015.). Prema Venskutonis (2018.) glog se tradicionalno uzgaja u mediteranskom području. Trnina je rasprostranjena u Europi, zapadnoj Aziji i sjeverozapadnoj Africi (Radovanović i sur., 2013.). Karakteristična je za područja gdje prevladava umjerena kontinentalna klima (Veličković i sur., 2013.). Pojavljuje se na šumskim rubovima, sunčanim i stjenovitim padinama, dolinama rijeka, na livadama i pašnjacima, te je nalazimo u nizinskim područjima, ali i na nadmorskim visinama do 1800 m (Popescu i Caudullo, 2016.). Ciljevi rada bili su utvrditi zastupljenost samoniklih voćnih vrsta na otoku Korčuli koji nose plodove tijekom zimskog perioda, razvijenost biljaka te stanje i promjer njihovih plodova.

## Materijal i metode

Terensko istraživanje provedeno je u razdoblju od 22. prosinca 2020. godine do 10. siječnja 2021. godine na više lokacija na otoku Korčuli gdje su prikupljeni uzorci.

Prilikom prikupljanja plodova zabilježeni su sljedeći podaci:

- lokalni naziv lokaliteta,
- koordinate lokaliteta izražene su u stupnjevima, minutama i sekundama a odnose se na lokaciju u čijem su krugu od 200 m utvrđene samonikle voćne vrste s plodovima za berbu,
- datum prikupljanja uzoraka,
- broj biljaka koje su obuhvaćene istraživanjem,
- promjer biljke na 20 cm visine od tla (mjereno pomičnim mjerilom),
- stanje plodova (vizualno boja i tvrdoća ploda dodirrom),
- promjer ploda (mjerilo se 20 plodova po svakoj biljci pomičnim mjerilom).

## Rezultati i rasprava

Plodovi mirte nalazili su se na biljkama krajem prosinca i početkom siječnja, bili su mekani, plave boje i prosječnog promjera širine ploda od 7.42-8.26 mm (Tablica 1). Plod je jestiva višesjemena bobica, sferičnog oblika, a sazrijevaju između listopada i veljače (Giampieri i sur. 2020.). Tek zametnuti plod je svijetlo zelene boje te kroz dozrijevanje prvo promjeni boju u tamnocrvenu a potom mijenja boju u plavo ljubičastu, ponekad i crnu, a dužina varira od 0.7 do 1.2 cm (Sumbul i sur. 2011.).

Tablica 1. Podaci istraživanja mirte (*Myrtus communis*) na otoku Korčula

Naziv lokaliteta	Koordinate	Datum	Broj biljaka	Promjer biljke (mm)	Stanje i prosječni promjer ploda (mm)
Lumbarda - Donje blato	42°56'07"N 17°09'10"E	22.12.2020.	5	17.6-24.6	Mekani, tamno plavi, 7.42
Lumbarda - Gornje blato	42°55'51"N 17°08'49"E	28.12.2020.	5	15.1-50.0	Mekani, tamno plavi, 7.86
Žrnovo	42°56'55"N 17°06'22"E	05.01.2021.	5	26.2-37.7	Mekani, tamno plavi, 7.74
Smokvica - Kapja	42°56'42"N 16°50'41"E	07.01.2021.	5	20.4-23.5	Mekani, tamno plavi, 8.26
Korčula - Bon repos	42°57'21"N 17°08'28"E	09.01.2021.	5	22.7-34.7	Mekani, tamno plavi, 7.71

Hacıseferoğulları i sur. (2012.) mjerili su dimenzije i masu plodova mirte sakupljenih u Turskoj provinciji Mersin, te su zabilježili prosječnu širinu od  $11.76 \pm 0.11$  mm što je nešto više od plodova s Korčule (Tablica 1).

Pasja ruža cvate od svibnja do srpnja te počinje dozrijevati u rujnu i listopadu. Plod pasje ruže se razlikuje od ostalih divljih ruža po tome što u listopadu ostaje tvrd, dok su plodovi drugih vrsta divljih ruža u listopadu sasvim mekani (Petranović, 1936.). U istraživanju Demir i Özkan, (2001.) na dvije lokacije u Turskoj (Hadim i Kastamon) zabilježili su prosječnu duljinu plodova od 17.29-19.68 mm, a širina od 11.16-13.20 mm.

Prilikom prikupljanja plodova pasje ruže na Korčuli utvrđeno je kako su oni još uvijek bili srednje tvrdi, osim na lokalitetu Žrnovo gdje su bili mekani, dok prosječni promjer ploda iznosi od 10.43-11.69 mm, što je u skladu s literaturom (Tablica 2).

Tablica 2. Podaci istraživanja pasje ruže (*Rosa canina*) na otoku Korčula

Naziv lokaliteta	Koordinate	Datum	Broj biljaka	Promjer biljke (mm)	Stanje i prosječni promjer ploda (mm)
Lumbarda - Donje blato	42°56'17"N 17°09'07"E	22.12.2020.	5	13.9-24.7	Srednje tvrdi, crveni, 11.69
Lumbarda - Gornje blato	42°55'46"N 17°08'57"E	28.12.2020.	5	10.2-21.5	Srednje tvrdi, crveni, 10.43
Žrnovo	42°56'53"N 17°06'18"E	05.01.2021.	5	13.7-28.2	Mekani, narančasti, 11.55
Pupnat	42°56'58"N 17°02'22"E	10.01.2021.	5	11.1-18.1	Srednje tvrdi, svijetlo, 10.84

Prema Oliveira i sur. (2011.) plodovi planike imaju dvije faze dozrijevanja, prva počinje sredinom listopada i završava početkom prosinca, dok se druga faza dozrijevanja odvija oko nove godine. Plod planike je maginja, višesjemena bobica, debljine oko 2 cm (Roman i sur. 2015.). Boja plodova varira od zeleno-žute do svijetlocrvene, ovisno o stupnju zrelosti (Jurica i Brčić, 2016.).

Tablica 3. Podaci istraživanja planike (*Arbutus unedo*) na otoku Korčula

Naziv lokaliteta	Koordinate	Datum	Broj biljaka	Promjer biljke (mm)	Stanje i prosječni promjer ploda (mm)
Smokvica - Kapja	42°56'43"N 16°50'45"E	07.01.2021.	1	61.76	Mekan, crveni, 23.90
Korčula - Hober	42°57'21"N 17°07'55"E	08.01.2021.	5	20.6-108.3	Mekan, narančasti - tamno crveni, 17.98
Lumbarda - Zamaslinjak	42°55'32"N 17°09'14"E	08.01.2021.	5	32.9-69.7	Mekani, crveni, 21.03
Korčula - Bon repos	42°57'21"N 17°08'27"E	09.01.2021.	5	20.6-82.9	Mekani, narančasti - crveni, 18.04
Lumbarda - Uvala račišće	42°55'42"N 17°09'37"E	10.01.2021.	5	24.4-60.5	Mekani, crveni - tamno crveni, 21.01
Žrnovo - Grubinjac	42°56'58"N 17°07'17"E	10.01.2021.	2	36.8-42.7	Mekani, narančasti - crveni, 18.94

Početkom siječnja 2021. godine plodovi planike uzorkovani na otoku Korčuli bili su mekani, narančaste do tamno crvene boje, prosječnog promjera ploda od 17.98 do 23.90 mm (Tablica 3).

Tablica 4. Podaci istraživanja plodova gloga (*Crataegus monogyna*) na otoku Korčula

Naziv lokaliteta	Koordinate	Datum	Broj biljaka	Promjer biljke (mm)	Stanje i prosječni promjer ploda (mm)
Lumbarda - Donje blato	42°56'12"N 17°09'09"E	22.12.2020.	5	42.3-51.6	Polutvrđ, tamno crveni, 8.88
Lumbarda - Gornje blato	42°55'50"N 17°08'46"E	28.12.2020.	5	31.2-58.6	Polutvrđ, crveni, 8.81
Smokvica - Kapja	42°56'46"N 16°50'58"E	07.01.2021.	5	32.1-66.7	Tvrđi, crveni - tamno crveni, 8.72

Glog ima male tamnocrvene plodove koji sazrijevaju sredinom jeseni, a koriste se za pripremu prerađevina poput džemova i sirupa (Nabavi i sur., 2015.).

Plodovi gloga ubrani su na Korčuli u zimskom periodu i još su bili na stablu, polutvrđi do tvrđi s prosječnim promjerom širine ploda od 8.72-8.88 mm (Tablica 4).

Tablica 5. Podaci istraživanja plodova trnine (*Prunus spinosa*) na otoku Korčula

Naziv lokaliteta	Koordinate	Datum	Broj biljaka	Promjer biljke (mm)	Stanje i prosječni promjer ploda (mm)
Lumbarda - Donje blato	42°56'06"N 17°09'09"E	22.12.2020.	5	26.4 – 40.5	Vrlo mekani, tamno plavi, 12.51

Plod trnine je koštunica, plavo crne boje i kuglastog oblika, promjera oko 10-15 mm, a meso ploda je kiselo i trpkasto, zelenkaste boje (Aliyazicioglu i sur., 2015.). Plodovi dozrijevaju u kasnu jesen, a ponekad se zadržavaju i tijekom zime (Popescu i Caudullo, 2016.). Na otoku Korčuli, koja obiluje samoniklim trninama, u zimskom periodu plodovi su ubrani samo na jednom lokalitetu, a promjer ploda bio je u skladu s podacima u literaturi (Tablica 5).

Tablica 6. Raspon promjera ploda istraživanih samoniklih voćnih vrsta na otoku Korčula

Vrsta	Raspon promjera ploda (u mm)
Mirta ( <i>Myrtus communis</i> L.)	5.21 – 10.75
Pasja ruža ( <i>Rosa canina</i> L.)	6.42 – 16.18
Planika ( <i>Arbutus unedo</i> L.)	13.09 – 54.95
Glog ( <i>Crataegus monogyna</i> Jacq.)	6.04-11.60
Trnina ( <i>Prunus spinosa</i> L.)	10.67 – 27.73

Ubrani plodovi pokazali su veliku varijabilnost u veličini ploda izraženoj kao promjer ploda, kako između tako i unutar istraživanih vrsta. Najmanja vrijednost promjera ploda zabilježena je kod mirte (5.21 mm), dok je najveća bila 54.95 mm kod planike (Tablica 6).

## Zaključak

Na temelju provedenih istraživanja utvrđeno je kako otok Korčula obiluje samoniklim voćnim vrstama, a od kojih više njih ima plodove koji se mogu brati i konzumirati u zimskom periodu. Najveći broj biljaka s plodovima u periodu istraživanja na različitim lokacijama imale su planika, mirta i pasja ruža, dok su plodovovi trnine zabilježeni samo na jednom mjestu. Najkrupnije plodove po izmjerenom prosječnom promjeru imala je planika na lokalitetu Smokvica – Kapja, dok je najmanji bio kod mirte na lokalitetu Lumbarda – Donje Blato. Determinirane samonikle voćne vrste koje su imale plodove u zimskom periodu predstavljaju veliki potencijal u razvoju novih prehrambenih proizvoda, ali i kao dio ponude kroz turizam izvan sezone te u uređenju krajobraza.

## Literatura

- Aliyazicioglu R., Yildiz O., Sahin H., Eyupoglu O. E., Ozkan M. T., Karaoglu S. A., Kolayli S. (2015). Phenolic Components and Antioxidant Activity of *Prunus spinosa* from Gumushane, Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*. 51(2): 346-349.
- Bonacci O., Ljubenkov I. (2020). Različite vrijednosti i trendovi temperatura zraka na dvije postaje na malom otoku: slučaj meteoroloških postaja Korčula i Vela Luke na otoku Korčuli. *Hrvatske vode*, 113: 183-196.
- Demir F., Özcan M. (2001). Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey. *Journal of Food Engineering*. 47: 333-336.
- Giampieri F., Cianciosi D., Forbes-Hernández T. Y. (2020). Myrtle (*Myrtus communis* L.) berries, seeds, leaves, and essential oils: New undiscovered sources of natural compounds with promising health benefits. *Food Frontiers*. Volumen (1): 276–295.
- Grlić Lj. (2005). Enciklopedija samoniklog jestivog bilja. Ex libris, Rijeka.

- Hacıseferoğulları H., Özcan M. M., Arslan D., Ünver A. (2012). Biochemical compositional and technological characterizations of black and white myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits. *Journal of food science and technology*. 49(1): 82–88.
- Jurica K., Brčić Karačonji I. (2019). Maginja – neotkriveno mediteranko blago. In Stipčević S.: *Znanstveni dalekozor*, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb. 21-26.
- Nabavi S.F., Habtemariam S., Ahmed T., Sureda A., Daglia M., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi S.M. (2015). Polyphenolic Composition of *Crataegus monogyna* Jacq.: From Chemistry to Medical Applications. *Nutrients*. 7(9): 7708–7728.
- Oliveira I., Baptista P., Bento A., Pereira J. A. (2011). *Arbutus unedo* L. and its benefits on human health. *Journal of Food and Nutrition Research*. 50(2): 73–85.
- Petranović, K. (1936). *Uzgoj ruža*. Josip Kratin, Zagreb.
- Popescu I., Caudullo G. (2016). *Prunus spinosa* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species*. EU, Luxembourg.
- Radovanović B. C., Milenković Anđelković A. S., Radovanović A. B., Anđelković M. Z. (2013). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Polyphenol Extracts from Wild Berry Fruits Grown in Southeast Serbia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 12(5): 813-819.
- Roman O., Kontić Karoglan J., Maletić E., Matotan Z., Strikić F. (2015.) Tradicijske sorte i pasmine Dalmacije. Program Ujedinjenih naroda za razvoj, Zagreb.
- Skendrović Babojelić M., Bogdanović S., Dlačić I., Duralija B., Prgomet Ž., Šic Žlabur J., Voća S. (2020). Obična planika (*Arbutus unedo* L.). Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb.
- Sumbul S., Aftab Ahmad M., Asif M., Akhtar M. (2011). *Myrtus communis* Linn. - A review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 2(4): 395-402.
- Topić V., Butorac L., Jelić G. (2009). Biomasa u panjačama planike (*Arbutus unedo* L.) na otoku Braču. *Šumarski list*. 133(1-2): 5-14.
- Veličković I., Žižak Ž., Rajčević N., Ivanov M., Soković M., Marin P., Grujić S. (2020). Examination of the polyphenol content and bioactivities of *Prunus spinosa* L. fruit extracts. *Archives of Biological Sciences*. 72(1): 105-115.
- Venskutonis P. R. (2018). Phytochemical composition and bioactivities of hawthorn (*Crataegus* spp.): review of recent research advances. *Journal of Food Bioactives*. 4: 69–87.

## Wild edible fruit species on the island of Korčula

### Abstract

The island of Korčula is located in the south Adriatic Sea and is rich in native flora, with many wild fruit species. The aim of this study was to determine the presence of wild fruit species on the island of Korčula that bear fruit in winter, and the diameter of the fruit. It was found that in the localities studied, the plants that bear fruit in December and early January are myrtle, dog rose, strawberry tree, hawthorn and blackthorn. The presence of a large number of wild fruits in winter can serve in the development of the creation of new products, as a supplement to the tourist offer outside the main season and as a valuable plant material in landscape architecture.

Key words: wild fruits, biodiversity, sustainability, fruit diameter, Mediterranean



## Utjecaj različitih sojeva *Saccharomyces* i ne-*Saccharomyces sp.* kvasaca na kemijski sastav vina 'Babić'

Ana-Marija Jagatić Korenika<sup>1</sup>, Ante Zorić<sup>1\*</sup>, Stipe Ivić<sup>2</sup>, Darko Preiner<sup>1</sup>, Ana Jeromec<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (amjagatic@agr.hr); \*student

<sup>2</sup>Institut za jadranske kulture i melioraciju krša, Zavod za biljne znanosti, Put Duilova 11, 21000 Split; Hrvatska

### Sažetak

Grožđe sorte 'Babić' s položaja Jadrtovac u vinogorju Šibenik, korišteno je u istraživanju utjecaja različitih vrsta i sojeva *Saccharomyces* i ne-*Saccharomyces sp.* (*Lachancea thermotolerans* i *Torulaspora delbrueckii*) kvasaca, nakon čega su uspoređeni sastav i svojstva proizvedenih vina. Osnovna fizikalno-kemijska analiza provedena je prema metodama O.I.V.-a, pojedinačne organske kiseline i ukupni fenolni spojevi analizirani su spektrofotometrijski, a pojedinačni fenolni spojevi uz pomoć tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC). Utvrđene su značajne razlike u koncentracijama svih osnovnih parametara, s posebnim naglaskom na pojedinačne organske kiseline, ukupnu kiselost i ukupne fenole.

**Ključne riječi:** 'Babić', *Lachancea thermotolerans*, ne-*Saccharomyces*, polifenoli, *Torulaspora delbrueckii*

### Uvod

Kvasci koji se koriste u alkoholnoj fermentaciji mošta oduvijek su imali važnu ulogu u formiranju svojstava budućeg vina. U većini slučajeva to su sojevi *Saccharomyces cerevisiae* kvasaca koji su već godinama u procesima selekcije te uz to što su pouzdani u provođenju fermentacije, uglavnom daju uniformne i vrlo slične sekundarne arome (Benito i sur., 2018.). Ne-*Saccharomyces* kvasce koje nalazimo kao dio epifitne mikroflore grožđa, donedavno se smatralo nepoželjnim kvascima (Benito i sur., 2016.). Sulfitiranjem mošta se uglavnom suzbijaju kako ne bi nepovoljno utjecali na tijek fermentacije, nakon čega se najčešće dodaju čiste, selekcionirane kulture *S. cerevisiae* kvasca boljih fermentabilnih svojstava zbog izvjesnijeg završetka i efikasnosti alkoholne fermentacije. Međutim, dokazano je kako pojedine ne-*Saccharomyces* vrste kvasaca imaju određene sposobnosti koje mogu biti korisne u vinarstvu vezano uz utjecaj na sastav i senzorna svojstva budućeg vina (Contreras, 2014.). Kada se koriste u kombinaciji sa *Saccharomyces sp.* kvascima stvaraju složenije arome koje ne nalazimo u vinima fermentiranim isključivo *Saccharomyces* kvascima, što vinima daje jedinstven karakter i prepoznatljivost (Belda i sur., 2017.). Određene vrste sposobne su povećati koncentraciju ukupnih kiselina u vinu, smanjiti koncentraciju etanola, povećati koncentraciju glicerola te smanjiti udio octene kiseline u vinu (Balicki i sur., 2016., Contreras i sur., 2014., Belda i sur., 2015.). Takvi učinci su vrlo zanimljivi posebno kada se u obzir uzmu globalno zatopljenje i problemi s kojima se vinari susreću zbog istog (Benito, 2018.).

Zbog navedenih karakteristika i potencijalne koristi, u posljednjih se nekoliko godina provode brojna istraživanja ne-*Saccharomyces* kvasaca (Benito, 2018.) kako bi se bolje razumjela i kontrolirala njihova uloga u vinarstvu koje mora odgovoriti na sve više izazova uključujući i tržište koje je u potrazi za laganijim i svježijim, ali i prepoznatljivim vinima.

## Materijal i metode

### Proizvodnja vina 'Babić'

Grožđe sorte 'Babić' pobrano je ručno, tijekom berbe 2019., u ekološkom vinogradu na položaju Jadrtovac, vinogorje Šibenik. Nakon muljanja i runjenja, masulj je raspoređen u šest inoks tankova zapremine 15 L. Masulj je sulfitiran s 5 %-tnom  $H_2SO_3$  u dozi od 50 mg/100 L. Nakon 24h dodani su kvasci i hrana za kvasce GoFerm Protect (Lallemand) po tretmanima: (i) BIon- Ionys (Lallemand); (ii) BGr- Fermol Grand Rouge (AEB); (iii) BD21- Lalvin D21 (Lallemand); (iv) BLak- Laktia (*Lachancea thermotolerans*, Lallemand) i (v) BBio- Biodiva (*Torulasporea delbrueckii*, Lallemand). Nakon 48 h uslijedila je sekvencijalna inokulacija s rehidriranim *Saccharomyces c.* sojem Lalvin D21 (Lallemand), uz dodatak GoFerm Protect (Lallemand), u tretmanima BLak i BBio. Tretman (vi) BSpont je prepušten spontanoj fermentaciji s epifitnim kvascima. Maceracija je trajala 8 dana, pri 20-22°C, nakon čega je uslijedilo prešanje masulja. Mošt u fermentaciji pretočen je u demižone od 5 L, u dva ponavljanja, gdje je fermentacija protekla do kraja. Nakon fermentacije izdvojeni su uzorci vina za fizikalno-kemijske i instrumentalne analize.

### Fizikalno-kemijske i instrumentalne metode analize vina

Osnovni fizikalno-kemijski parametri poput koncentracije alkohola, ukupnog suhog ekstrakta, ekstrakta bez šećera, reducirajućih šećera, pepela, ukupne kiselosti, hlapljive kiselosti te pH vrijednost određene su prema metodama O.I.V-a (2012).

Pojedinačne organske kiseline određene su tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, Agilent 1050 (Palo Alto, SAD). Uzorak je prethodno filtriran pomoću PTFE membranskih filtera (0.45  $\mu$ m). Identifikacija i kvantifikacija provedena je pri valnoj duljini  $\lambda=210$  nm na Aminex HPX-87H (BioRad, Hercules, CA, SAD).

### Ukupni fenolni spojevi u moštu i vinu određeni su spektrofotometrijski prema metodi

Singelton i Rossi (1965.) koja se temelji na kolornoj reakciji fenolnih spojeva sa Folin-Ciocalteu reagensom. Ukupni fenoli su izraženi u  $mgL^{-1}$  ekvivalenta galne kiseline (GAE).

Ukupni antocijani u vinu određeni su spektrofotometrijski. Postupak određivanja antocijana obavljen je razrjeđivanjem vina 20 do 50 puta u etanol kloridu (EtOH:HCl:H<sub>2</sub>O=70:30:1) tako da očitana apsorbancija bude u intervalu između  $0.3 < A < 0.6$  pri valnoj duljini 540 nm. Apsorbancija se očitavala tri puta, a aritmetička sredina se uzima kao konačni rezultat. Ukupni sadržaj antocijana izražen je kao ekvivalent malvidin-3-glukozida, a izračunat je pomoću formule: ukupni antocijani ( $mg/L = A \times 20 \times D$ , gdje A označava apsorbanciju na 540 nm, a D je faktor razrjeđivanja (Ivanova i sur., 2009.).

### Statistička analiza podataka

Za rezultate svih analiza provedena je statistička analiza koja je uključila analizu varijance (ANOVA) pri čemu se srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički razlikuju pri  $p < 0.05$  te analizu glavnih komponenata (PCA) korištenjem paketa STATISTICA 7.0.

## Rezultati i rasprava

Prema rezultatima osnovne analize prikazanim u Tablici 1., samo je fermentacija s kvascem D21 rezultirala suhim vinom, u svim ostalim uzorcima zabilježeno je 4.1-8.2  $gL^{-1}$  rezidualnog šećera. Najviša koncentracija ekstrakta zabilježena je u uzorku BD21. Sekvencijalna inokulacija s *L. thermotolerans* rezultirala je najvišom koncentracijom vinske

i mliječne kiseline (Tablica 2.) te ukupne kiselosti, a posljedično i nižom pH vrijednošću, što je u skladu s drugim istraživanjima (Dutraive i sur., 2019., Morata i sur., 2019., Benito, 2018.). U istom uzorku zabilježena je i najviša koncentracija pepela. Najniža koncentracija hlapljivih kiselina zabilježena je kod sekvencijalne inokulacije s *T. delbrueckii* (BBio).

Tablica 1. Osnovni fizikalno-kemijski parametri u vinima 'Babić' 2019.

Parametri	BSpont	BLak	BBio	Blon	BGr	BD21
Alkohol (vol%)	13.7 <sup>a</sup>	13.0 <sup>b</sup>	13.0 <sup>b</sup>	13.1 <sup>b</sup>	13.0 <sup>b</sup>	13.7 <sup>a</sup>
Ekstrakt ukupni (gL <sup>-1</sup> )	31.0 <sup>a</sup>	30.5 <sup>b</sup>	29.2 <sup>b</sup>	29.7 <sup>b</sup>	28.4 <sup>c</sup>	28.7 <sup>c</sup>
Šećer reducirajući (gL <sup>-1</sup> )	8.2 <sup>a</sup>	4.1 <sup>d</sup>	5.3 <sup>c</sup>	6.4 <sup>b</sup>	5.3 <sup>c</sup>	< 1.0 <sup>e</sup>
Ekstrakt bez šećera (gL <sup>-1</sup> )	23.8 <sup>d</sup>	27.4 <sup>b</sup>	24.9 <sup>c</sup>	24.3 <sup>c</sup>	24.1 <sup>c</sup>	28.7 <sup>a</sup>
Ukupna kiselost (gL <sup>-1</sup> )	5.0 <sup>c</sup>	7.7 <sup>a</sup>	6.1 <sup>c</sup>	5.6 <sup>d</sup>	6.4 <sup>b</sup>	6.6 <sup>b</sup>
Hlapljiva kiselost (gL <sup>-1</sup> )	0.47 <sup>a</sup>	0.50 <sup>a</sup>	0.37 <sup>c</sup>	0.46 <sup>a</sup>	0.42 <sup>b</sup>	0.47 <sup>a</sup>
pH	3.55 <sup>a</sup>	3.33 <sup>c</sup>	3.39 <sup>c</sup>	3.46 <sup>b</sup>	3.39 <sup>c</sup>	3.40 <sup>b</sup>
Pepeo g/L	2.38 <sup>c</sup>	2.59 <sup>a</sup>	2.37 <sup>c</sup>	2.37 <sup>c</sup>	2.37 <sup>c</sup>	2.50 <sup>b</sup>
Ukupni fenoli (mgL <sup>-1</sup> )	2254.59 <sup>a</sup>	1604.23 <sup>c</sup>	1883.96 <sup>d</sup>	1596.07 <sup>f</sup>	1934.19 <sup>c</sup>	2128.89 <sup>b</sup>
Ukupni antocijani (mgL <sup>-1</sup> )	333.69 <sup>b</sup>	313.30 <sup>d</sup>	324.42 <sup>c</sup>	318.86 <sup>d</sup>	344.19 <sup>a</sup>	339.87 <sup>b</sup>

Srednje vrijednosti označene različitim slovima (a,b,c) su signifikantno različite pri p=0.05; n=2

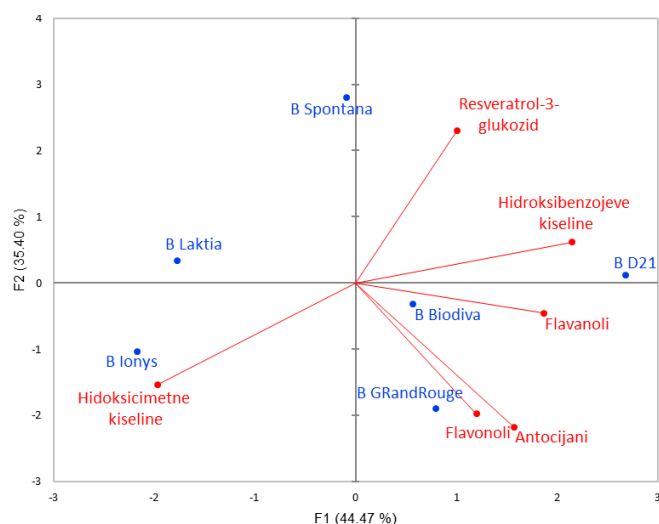
Analize ukupnih fenola u vinima 'Babić' ukazuju na najvišu koncentraciju uslijed fermentacije s epifitnim kvascima, dok je najniža zabilježena u varijanti BIon, s razlikom od 658 mgL<sup>-1</sup>. Značajna razlika zabilježena je uslijed primjena sekvencijalnih fermentacija s *ne-Saccharomyces* kvascima. Manje značajnih razlika nađeno je kod analize ukupnih antocijana, pri čemu je najviša koncentracija u varijanti BGr, a najniža u varijanti s *L. thermotolerans* (BLakt) što je u suprotnosti s zaključcima dosadašnjih istraživanja (Benito, 2018a, Chen i sur., 2018).

Tablica 2. Pojedinačne organske kiseline u vinu 'Babić' (gL<sup>-1</sup>)

Organske kiseline	BSpont	BLak	BBio	Blon	BGr	BD21
Limunska	0.16 <sup>d</sup>	0.67 <sup>b</sup>	0.64 <sup>b</sup>	0.20 <sup>d</sup>	0.44 <sup>c</sup>	1.05 <sup>a</sup>
Vinska	2.29 <sup>c</sup>	2.76 <sup>a</sup>	2.5 <sup>b</sup>	2.47 <sup>c</sup>	2.63 <sup>a</sup>	2.6 <sup>b</sup>
Jabučna	0.17 <sup>c</sup>	0.62 <sup>b</sup>	0.74 <sup>a</sup>	0.25 <sup>d</sup>	0.54 <sup>c</sup>	0.79 <sup>a</sup>
Jantarna	0.48 <sup>c</sup>	0.99 <sup>a</sup>	0.77 <sup>b</sup>	0.69 <sup>b</sup>	1.02 <sup>a</sup>	1.02 <sup>a</sup>
Mliječna	0.42 <sup>b</sup>	0.99 <sup>a</sup>	0.13 <sup>d</sup>	0.35 <sup>c</sup>	0.16 <sup>d</sup>	0.16 <sup>d</sup>

Srednje vrijednosti označene različitim slovima (a,b,c) su signifikantno različite pri p=0.05; n=2

Obzirom na brojnost analiziranih fenolnih spojeva, rezultati su obrađeni analizom osnovnih komponenti samo prema grupama spojeva (Grafikon 1.). Temeljem položaja u koordinatnom sustavu vidljivo je kako su uzorci BD21, BGr, BBio i BSpont pozitivno povezani s gotovo svim grupama fenolnih spojeva, pri čemu je BD21 vezan više uz hidroksibenzojeve kiseline i flavanole, BSpont uz resveratrol-3-glukozid, a BGr uz flavanole i antocijane. Na lijevoj, negativnoj strani PC1, izdvajaju se uzorci BLakt i BIon, karakteriziran s većim utjecajem hidroksicimetnih kiselina.



Grafikon 1. Analiza osnovnih komponenti (PCA)- grupe fenolnih spojeva u vinima 'Babić'

## Zaključak

U istraživanju utjecaja različitih *Saccharomyces cerevisiae* i ne-*Saccharomyces* kvasaca na sastav vina 'Babić' berbe 2019. najbolji fermentabilni učinak zabilježen je kod soja *S. cerevisiae* BD21, međutim, nisu utvrđene i jednoznačne razlike u omjeru transformacije šećera u etanol između fermentacija s čistim kulturama *S. cerevisiae* i sekvencijalnih inokulacija s ne-*Saccharomyces* kvascima. Sekvencijalna inokulacija kvasaca *Lachancea thermotolerans* i *S. cerevisiae* rezultirala je značajno najvišom koncentracijom ukupne kiselosti te vinske i mliječne kiseline. Sekvencijalna fermentacija s *Torulaspora delbrueckii* rezultirala je s najnižom koncentracijom hlapljive kiselosti. U svim vinima 'Babić' proizvedenim inokuliranim fermentacijama zabilježene su niže koncentracije ukupnih fenola u odnosu na učinak spontane fermentacije s epifitnim kvascima.

## Literatura

- Balikci E. K., Tanguer H., Jolly N. P., Erten H. (2016). Influence of *Lachancea thermotolerans* cv. Emir wine fermentation. *Yeast*. 33:313–321.
- Belda I., Navascués E., Marquina D., Santos A., Calderon F., Benito S. (2015). Dynamic analysis of physiological properties of *Torulaspora delbrueckii* in wine fermentations and its incidence on wine quality. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 99:1911–1922.
- Benito S., Palomero P., Calderón F., Palmero D., Suárez-Lepe J.A. (2014). *Schizosaccharomyces*. In: Batt CA, Tortorello M.L., (ed.), 365–70. *Encyclopedia of food microbiology*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Ltd, Academic Press.
- Benito A., Calderon F., Benito S. (2018). *Schizosaccharomyces pombe* Isolation Protocol. U: Singleton T.L. (ed) *Methods molecular biology*. Poglavlje 20. Berlin, Germany: Springer.
- Benito S. (2018a). The impacts of *Lachancea thermotolerans* yeast strains on winemaking. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 102:6775–6790.
- Chen K., Escott C., Loira I., del Fresno J.M., Morata A., Tesfaye W., Calderon F., Suárez-Lepe J.A., Han S., Benito S. (2018). Use of non-*Saccharomyces* yeasts and oenological tannin in red winemaking: influence on colour, aroma and sensorial properties of young wines. *Food Microbiology*. 69:51–63.
- Contreras A., Hidalgo C., Henschke P. A., Chambers P. J., Curtin C., Varela C. (2014). Evaluation of non-*Saccharomyces* yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *Applied and Environmental Microbiology*. 80:1670–1678.
- De Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W. C. A., Manley, M. (2002). Phenolic compounds: A review of their possible role as in vivo antioxidants. *South African Journal for enology and viticulture* 23(2): 48–61.

- Dutraive O., Benito S., Fritsch S., Beisert B., Patz C. D., Rauhut D. (2019). Effect of Sequential Inoculation with Non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces* Yeasts on Riesling Wine Chemical Composition. *Fermentation*. 5:79.
- Ivanova V., Stefova M., Chinnici F. (2010). Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 75(1):45-49.
- Morata A., Bañuelos M.A., Vaquero C., Loira I., Cuerda R., Palomero F. (2019). *Lachancea thermotolerans* as a tool to improve pH in red wines from warm regions. *European Food Research and Technology*. 24, 5(4):885-894.
- O.I.V. (2012). International code of oenological practices, 01, Paris.
- Singleton V. L., Rossi J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-158.

## **Influence of different strains of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* sp. yeast on the chemical composition of cv. Babić wine**

### **Abstract**

Grapes of *Vitis vinifera* L. cv. Babić from the viticultural position Jadrtovac in the Šibenik area were used in the study of different strains of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* sp. (*Lachancea thermotolerans* and *Torulaspora delbrueckii*) yeast influence. Afterwards, the composition and properties of the produced wines were compared. Basic physicochemical analysis were performed according to O.I.V. methods, individual organic acids and total phenolic compounds were analyzed spectrophotometrically, and individual phenolic compounds were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). Significant differences in concentrations of all basic parameters were found, with special emphasis on individual organic acids, total acidity and total phenols.

**Keywords:** Babić, *Lachancea thermotolerans*, non-*Saccharomyces*, polyphenols, *Torulaspora delbrueckii*

## Primjena kvasca *Lachancea thermotolerans* u proizvodnji vina 'Blatina'

Ana Jeromel, Luna Maslov, Branimir Šimić\*, Ana-Marija Jagatić Korenika

*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (amajdak@agr.hr) \*student*

### Sažetak

U berbi 2019. primjenom komercijalno dostupnog soja kvasca *Lachancea thermotolerans* i kvasca *S. cerevisiae* proizvedena su vina od sorte 'Blatina' te je uspoređen njihov osnovni kemijski sastav i aromatski profil. Primjenom ekstrakcije na čvrstoj fazi te vezanim sustavom plinska kromatografija- spektrometar masa, u vinima je identificirano preko 100 hlapivih spojeva klasificiranih u devet kemijskih grupa pri čemu su utvrđene značajne različitosti s obzirom na korištenu kombinaciju kvasaca. Rezultati kemijske analiza pokazali su pozitivan utjecaj ne- *Saccharomyces* kvasca pri smanjenju sadržaja etanola te povećanju koncentracije mliječne kiseline i ukupne kiselosti te ukazali na različitost u aromatskoj strukturi vina.

**Ključne riječi:** aromatski profil, ne-*Saccharomyces* kvasci, *Lachancea thermotolerans*, 'Blatina'

### Uvod

Posljednjih godina sve je naglašeniji utjecaj klimatskih promjena na kemijski sastav grožđa a time i kvalitetu vina. Uslijed globalnog zatopljenja dolazi do povećanja sadržaja šećera te smanjenja koncentracija pojedinačnih organskih kiselina a time i ukupne kiselosti uz povećanje vrijednosti pH. Navedeni problemi pokušavaju se riješiti promjenom sortimenta, izborom vinogradarskog položaja, ampelotehničkim i agrotehničkim zahvatima te primjenom novih mikrobioloških spoznaja o ne-*Saccharomyces* kvascima. Dugo vremena su se ne-*Saccharomyces* kvasci smatrali nepoželjnima, no u posljednje vrijeme se ponovno vraćaju u upotrebu zbog brojnih istraživanja koja su pokazala da mogu imati pozitivan učinak na kemijska i senzorna svojstva vina. Najveću su pozornost privukli kvasci *Torulaspora delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima* i *Lachancea thermotolerans* (Jolly i sur., 2014.). *Lachancea thermotolerans* je jedan od ne-*Saccharomyces* kvasaca koje možemo prirodno naći tijekom alkoholne fermentacije (Nurgel i sur. 2005.). Utječe na povećanje ukupne kiselosti vina proizvodnjom L-mliječne kiseline. Osim biološkog zakiseljavanja vina, korištenje *Lachanceae thermotolerans* zajedno sa *Saccharomyces cerevisiae* može rezultirati potenciranjem cvjetnih i voćnih aroma u bijelim vinima, te kompleksnijim i zaokruženijim okusom crnih vina (Jolly i sur., 2014.). Petruzzi i sur. (2017.) također su naveli da utječe na povećanje složenosti i intenziteta okusa, povećanje ukupne kiselosti, te smanjenje hlapljivih kiselina. Koncentracija etanola u vinima u kojima je alkoholnu fermentaciju provodila *L. thermotolerans* bila je nešto niža (Hranilović i sur., 2017.) dok je smanjenje pH uzrokovano radom *L. thermotolerans* imalo pozitivan utjecaj na boju vina s obzirom da su vina bila bogatija antocijanima (Chen i sur., 2018.). S obzirom da se zna kako sorta 'Blatina' ima relativno nizak sadržaj ukupne kiselosti, provedenim istraživanjem pokušalo se utvrditi mogućnosti primjene ne- *Saccharomyces* kvasca s ciljem povećanja ukupne kiselosti i smanjenja pH vrijednosti uz povećanja kompleksnosti mirisa i okusa vina.

## Materijal i metode

### *Vinifikacija sorte 'Blatina'*

Za istraživanje korišteno je grožđe sorte 'Blatina' iz Mostarskog vinogorja, berbe 2019. Vino je proizvedeno po uobičajenoj tehnologiji proizvodnje crnih vina koje je obuhvatilo muljanje, runjenje, klasičnu maceraciju u trajanju 7 dana te prešanje masulja. Alkoholna fermentacija provedena je pri kontroliranoj temperaturi od 25 °C. Za proizvodnju vina korišteni su inox tankovi od 100 L. Po završetku fermentacije vina su otočena s taloga te su uzeti uzorci za osnovnu fizikalno kemijsku analizu i analizu hlapljivih spojeva. Kontrolni tretman pokusa (K) obuhvatila je inokulaciju masulja sa *S. cerevisiae* komercijalnim kvascem SIHA 10™ dok je drugi tretman pokusa (L+S) bila sekvencijalna inokulacija masulja s komercijalnim kvascem *Lachancea thermotolerans* LAKTIA™ te nakon 36 sati sa SIHA 10™ kvascem. Koncentracija šećera u grožđu iznosila je 96 °Oe, ukupna kiselost bila je 6.6 g/L dok je pH vrijednost iznosila 3.36.

### *Selekcionirani kvasci u istraživanju*

LAKTIA™ (Lallemand Oenology) selekcionirani soj *L. thermotolerans* sa jedinstvenom sposobnošću sinteze mliječne kiseline tijekom alkoholne fermentacije te inteziviranjem aromatskog profila. Ima naglašenu toleranciju na visoke temperature te nisku toleranciju na alkohol (< 10 % v/v). Ne stvara velike količine hlapljive kiseline.

SIHA 10™ (Begerow) selekcionirani je soj *S. cerevisiae* kvasca koji se posebno uspješno primjenjuje za fermentaciju masulja i moštova crnih vina posebice iz toplijih područja uzgoja. Specijalne prednosti su uz zadržavanja boje i brzi početak fermentacije visoka tolerancija na alkohola (16 % v/v) kao i niska sinteza SO<sub>2</sub>.

### *Analiza hlapljivih aromatskih spojeva*

Ekstrakcija hlapljivih spojeva iz vina provedena je primjenom ekstrakcije na čvrstoj fazi s LiChrolut EN kolonicama (500 mg, 3 mL, Darmstadt, Njemačka). Prije nanošenja uzorka kolonica je kondicionirana s 3 mL diklormetana, metanola i 13 %-tne vodene otopine etanola. Po završetku kondicioniranja, nanoseno je 50 mL uzorka vina. Prolaskom uzorka kroz kolonicu ostavljena je da se suši na zraku 30 min, a potom je provedeno ispiranje analita s 1 mL diklormetana. Dobiveni ekstrakt prenesen je u posudicu za uzorak i analiziran primjenom metode GC-MS. Za potrebe analize GC-MS korištena je kolona ZB-WAX dimenzija 60 m x 0,25 mm i.d. x 0,50 μm (Phenomenex, SAD). Analiza je provedena na vezanom sustavu GCMS (plinski kromatograf Agilent Technology 6890, spektrometar masa Agilent 5973N). Ostali parametri analize bili su istovjetni onima opisanima u radu Lopez i sur. (2002).

### *Određivanje pojedinačnih organskih kiselina*

Organske kiseline (vinska, jabučna, mliječna) određene su tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, Agilent 1050 (Palo Alto, SAD). Uzorak se prethodno filtrirao pomoću PTFE membranskih filtera (0.45 μm). Identifikacija i kvantifikacija provela se pri valnoj duljini λ=210 nm na Aminex HPX-87H (BioRad, Hercules, CA, SAD).

### *Statistička analiza podataka*

Razlike u kemijskom sastavu moštova i vina te utjecaju tretmana na kakvoću vina sorte 'Blatina', testirane su faktorskom analizom varijance (ANOVA-om). Značajnost razlika između razina faktora testirana je na razini značajnosti p=5%, uz Benferronijevu korekciju. Za sve analize varijance upotrebljavala se procedura iz statističkog paketa SAS (SAS Institute, Cary NC).

## Rezultati i rasprava

U Tablici 1. prikazani su osnovni fizikalno-kemijske parametri vina 'Blatina' te ukupna koncentracija hlapljivih aromatskih spojeva svrstanih u odgovarajuće kemijske grupe. U skladu s literaturnim navodima (Gobbi i sur., 2013.) vina dobivena primjenom *L. thermotolerans* imala su značajno nižu koncentraciju alkohola dok je vrijednost ukupne kiselosti bila veća. Sukladno tome, utvrđeno je i smanjenje pH vrijednosti, a glavni razlog tome je sposobnost navedenog ne-*Saccharomyces* kvasca da sintetizira mliječnu kiselinu što je potvrđeno u dosadašnjim istraživanjima (Kapsopoulou i sur., 2007.). Naglašena različitost u aromatskom profilu dobivenih vina uočena je u koncentraciji hlapljivih fenola i C13-norisoprenoida čije su koncentracije bile signifikantno više u vinima varijante L+S te nešto višom koncentracijom terpena dok su se kontrolna vina izdvojila većom koncentracijom estera i masnih kiselina. U istraživanju utjecaja ne-*Saccharomyces* kvasaca na aromatski profil vina Shiraz, Whitener i sur. (2017.) također su utvrdili povećanje koncentracija pojedinih terpena dok je pozitivan utjecaj pri sintezi viših alkohola prikazan u radu Beckner i sur. (2015.). Promatrajući dobivene rezultate, primjena *L. thermotolerans* tijekom alkoholne fermentacije nije značajnije utjecala na vrijednosti hlapljive kiselosti što je jedan pokazatelj opravdanosti njezine primjene u proizvodnji vina.

Tablica 1. Kemijski sastav vina 'Blatina', berbe 2019.

	Kontrola (K)	<i>L. thermotolerans</i> (L+S)
Alkohol (vol%)	12.9 <sup>a</sup>	12.5 <sup>b</sup>
Ukupna kiselost (g/L)	5.3 <sup>b</sup>	5.8 <sup>a</sup>
Hlapiva kiselosti (g/L)	0.44 <sup>a</sup>	0.54 <sup>a</sup>
pH	3.46 <sup>a</sup>	3.35 <sup>a</sup>
Jabučna kiselina (g/L)	1.08 <sup>a</sup>	0.76 <sup>b</sup>
Mliječna kiselina (g/L)	0.09 <sup>b</sup>	0.81 <sup>a</sup>
∑ Aldehidi (μg/L)	289.06 <sup>a</sup>	257.96 <sup>a</sup>
∑ Viši alkoholi (μg/L)	49131.05 <sup>b</sup>	50809.20 <sup>a</sup>
∑ Hlapivi fenoli (μg/L)	124.04 <sup>b</sup>	618.62 <sup>a</sup>
∑ Terpeni (μg/L)	162.80 <sup>a</sup>	176.80 <sup>a</sup>
∑ C13-norisoprenoidi (μg/L)	6.55 <sup>b</sup>	8.59 <sup>a</sup>
∑ Esteri (μg/L)	10280.21 <sup>a</sup>	6952.26 <sup>b</sup>
∑ Laktoni (μg/L)	300.57 <sup>b</sup>	482.57 <sup>a</sup>
∑ Masne kiseline (μg/L)	5258.74 <sup>a</sup>	4833.16 <sup>b</sup>
∑ Ostali alkoholi (μg/L)	56.98 <sup>a</sup>	53.72 <sup>a</sup>

Srednje vrijednosti označene različitim slovima (a,b,c) su signifikantno različite pri p=0.05

## Zaključak

Dobiveni rezultati istraživanja primjene *L. thermotolerans* kvasca u proizvodnji vina 'Blatina' potvrdili su dosadašnje spoznaje o njegovom utjecaju na kemijski sastav vina. Povećanje ukupne kiselosti i smanjenje pH vrijednosti temeljem povećane sinteze mliječne kiseline radom *L. thermotolerans* kvasaca jedan je od mogućih načina biološkog zakiseljavanja čime se u konačnici može direktno utjecati kako na mikrobiološku stabilnost vina tako i na potencijal dozrijevanja te stabilnost boje.



## Literatura

- Beckner Whitener M. E., Stanstrup J., Panzeri V., Carlin S., Divol B., Du Toit M., Vrhovsek, U. (2016). Untangling the wine metabolome by combining untargeted SPME–GCxGC-TOF-MS and sensory analysis to profile Sauvignon blanc co-fermented with seven different yeasts. *Metabolomics*. 12:1-25.
- Chen K., Escott C., Loira I., del Fresno J.M., Morata A., Tesfaye W., Calderon F., Gobbi M., Comitini, F., Domizio, P., Romani, C., Lencioni, L., Mannazzu, I., Ciani, M. (2013). *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous and sequential co-fermentation: A strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine. *Food Microbiology*. 33: 271–281.
- Hranilovic A., Li S., Boss P. K., Bindon K., Ristic R., Grbin P.R., Van der Westhuizen T., Jiranek V. (2017). Chemical and sensory profiling of Shiraz wines co-fermented with commercial non-*Saccharomyces* inocula. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 24: 166–180.
- Jolly N.P., Varela C., Pretorius S. I. (2014). Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Research*. 14: 215-237.
- Kapsopoulou K., Mourtzini A., Anthoulas M., Nerantzis E. (2007). Biological acidification during grape must fermentation using mixed cultures of *Kluyveromyces thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 23: 735–739.
- Nurgel C., Erten H., Canbas A., Cabaroglu T., Selli S. (2005). Yeast flora during the fermentation of wines made from *Vitis vinifera* L. cv. Emir and Kalecik Karasi grown in Anatolia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 21: 1187–1194.
- Petruzzi L., Capozzi V., Berbegal C., Corbo M. R., Bevilacqua A., Spano G., Sinigaglia Suárez-Lepe J. A. (2017). Microbial resources and enological significance: Opportunities and benefits. *Frontiers in Microbiology*. 8: 989-999.
- Petruzzi L., Capozzi V., Berbegal C., Corbo M. R., Bevilacqua A., Spano G., Sinigaglia Suárez-Lepe J. A., Han S., Benito S. (2018). Use of non-*Saccharomyces* yeasts and oenological tannin in red winemaking: influence on colour, aroma and sensorial properties of young wines. *Food Microbiol*. 69: 51–63.
- Whitener M. E. B., Stanstrup J., Carlin S., Divol B., Du Toit M., Vrhovsek, U. (2017). Effect of non-*Saccharomyces* yeasts on the volatile chemical profile of Shiraz wine. *Australian Journal of Grape Wine Research*. 23: 179–192.

## Use of *Lachancea thermotolerans* yeast in Blatina wine production

### Abstract

In the 2019. harvest yeas with use of commercialy available yeast strain of *L. thermotolerans* and *S. cerevisiae* yeast Blatina wines were produced. In the wines chemical composition and aroma profile was evaluated and compared. In the wines 120 volatile aroma compounds classified in was identified, quatified and placed in nine chemical groups by use of GC-MS gas chromatography. Achieved results pointed out significant differences among yeast strains used showing positive influence of non- *Saccharomyces* yeast on ethanol concentrations, malic acid and total acidity as well as marked differences in wine aroma structure.

**Key words:** aroma profile, non-*Saccharomyces* yeasts, *Lachancea thermotolerans*, Blatina

## Utjecaj navodnjavanja na napad ploda sorte „Coratina“ (*Olea europaea* L.) maslininom muhom (*Bactrocera oleae* Geml.)

Tomislav Kos<sup>1</sup>, Zoran Šikić<sup>1</sup>, Šimun Kolega<sup>1</sup>, Marko Zorica<sup>1</sup>, Kristijan Franin<sup>1</sup>, Ana Gašparović Pinto<sup>1</sup>, Šime Marčelić<sup>1</sup>

Sveučilište u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu, Trg kneza Višeslava 9., 23000 Zadar, Hrvatska (tkos@unizd.hr)

### Sažetak

Cilj rada je utvrditi kako različiti obroci vode navodnjavanja utječu na zarazu plodova sorte maslina 'Coratina', maslininom muhom. Poljski pokus je proveden u sklopu projekta (SAN-KK.01.2.1.01.0100) na 24 stabla u dvije godine (2019./2020.) na lokaciji Žman (Dugi otok). Navodnjavanje je obavljeno sustavom kap na kap sa četiri varijante u tri ponavljanja. Određen je poljski kapacitet tla za vodu, a evapotranspiracija je izračunata pomoću meteopostaje Pinova™. Provedena je ANOVA. Utvrđene su razlike između godina, varijanti i između godina i varijanti na prosječan broj zaraženih plodova. Određena je jaka povezanost između varijanti i oštećenja ploda. Opisana je linearnom regresijom.

**Ključne riječi:** Coratina, maslina, muha, navodnjavanje, Žman

### Uvod

Maslina (*Olea europaea* L.) se uzgaja na svim naseljenim kontinentima, ali čak 98 % nasada maslina nalazi se na Mediteranu. Maslina zauzima posebno mjesto u kulturi i prehrani ljudi na Sredozemlju (Ozimec i sur., 2015.). Gospodarski značajna, međutim u uzgoju i prehrani premalo zastupljena u RH. Ograničavajućih čimbenika za uzgoj ima mnogo, jedan od značajnijih je maslinina muha (*Bactrocera oleae* Gmel.) (Diptera, Tephritidae). Štetnik je raširen i značajan u cijelom mediteranskom bazenu, kao i u uzgojnom području masline u RH (Bjeliš, 2005.). Pojava gospodarskih šteta od ovog štetnika usko je vezana uz intenzitet oborina i opskrbljenost ploda vodom. Suša tijekom prelaska masline preko fenofaza dovodi do smanjenja cvatnje, spontanog opadanja plodova i do manjeg udjela ulja u plodovima. Preporuka je da se navodnjavanje primjenjuje kao mjera u svrhu smanjenja negativnih učinaka na ekonomičnost maslinarske proizvodnje. Isto tako ono je jedna od mjera za smanjenje izmjenične rodnosti (Rallo i sur., 2018.). Cilj rada je utvrditi kako različiti obroci vode dodani navodnjavanjem utječu na zarazu plodova sorte maslina 'Coratina', maslininom muhom. Coratina je zbog svojih uzgojnih, a Žman (Dugi otok) zbog agroekoloških razloga odabran za istraživanje ovog utjecaja.

### Materijal i metode

Dvogodišnje istraživanje je provedeno na OPG-u Nives Morović (43.961932 N, 15.122649 E) u blizini mjesta Žman na Dugom otoku na nadmorskoj visini od 70 metara. Na tom području prevladava sredozemna otočna klima (Csa) s blagim, kišovitim i umjereno vjetrovitim zimama, te vrlo toplim i suhim ljetima (Lozić i sur, 2013.). Prema podacima meteorološke postaje Pinova™, prosječna temperatura zraka za 2019. i 2020. godinu iznosila je 15,35 °C, dok je prosječna dvogodišnja količina oborina iznosila 955 mm (Pinova-meteo, 2020.). Pedološkim elaboratom na lokaciji istraživanja utvrđeno je da tlo pripada tipu kultivirano-melioriranih tala na kršu, te se sastoji od jednog antropogenog horizonta do dubine od 40 cm. Tlo je osrednjeg kapaciteta za vodu, te vrlo visokog kapaciteta

za zrak (Husnjak i sur., 2019.). Prirodno zatravljeno tlo maslinika održavano je redovitom košnjom, dok je dio oko svake masline plitko obrađen motokultivatorom. Prosječna starost nasada je 10 godina. Masline su uzgojnog oblika slobodne vaze s 3 do 4 osnovne grane. Za istraživanje su uzeta 24 stabla s vlastitim korijenom sorte 'Coratina'. Sorta je talijanska, introducirana, krupnog ploda i visokog randmana ulja, 20 do 25 % (Večernik, 2003.). Svrha postavljanja dvogodišnjeg istraživanja bila je utvrditi kako različite prakse navodnjavanja utječu na zarazu ploda maslininom muhom u berbi. Shema pokusa bila je slučajni blokni raspored s četiri varijante u tri ponavljanja. Jedno ponavljanje činila su dva stabla navedene sorte. Prije postavljanja pokusa određena je prosječna visina i širina stabala koja je iznosila 200 cm, odnosno 268 cm, u svrhu procjene i postavljanja sustava za navodnjavanje. Ono je provedeno sustavom „kap po kap“ spiralno postavljenim cijevima u širini krošnje oko pojedinog stabla. Količina vode za navodnjavanje izmjerena je mjeračima protoka trgovačke marke Orbit™. Varijante u pokusu su bile: 1. K-kontrola (bez navodnjavanja), 2. T1(PP)-proizvođačka praksa (448 L vode po stablu u pet obroka), 3. T3(SAN)-SAN (560 L vode po stablu u osam obroka) i 4. T4-100 % prema izračunatoj evapotranspiraciji (ETc) (800 L vode po stablu u osam obroka). Količinu vode i broj obroka navodnjavanja u varijanti proizvođačka praksa odredio je proizvođač prema vlastitom iskustvu i proizvodnoj praksi. Na SAN varijanti navodnjavanje je određeno s obzirom na kapacitet tla za vodu, evapotranspiraciju i fenofaze rasta. Količina vode dodana navodnjavanjem na varijantama SAN i 100 % utvrđena je prema formuli [1] (Serafini i sur., 2007.):

$$[1] IR = Etc - Ep - R$$

IR= potreba za navodnjavanjem

Ep= efektivne oborine (sve oborine iznad 10 mm)

R= poljski kapacitet tla za vodu

Etc= evapotranspiracija izračunata formulom [2]:

$$[2] Etc = Eto \times Kc$$

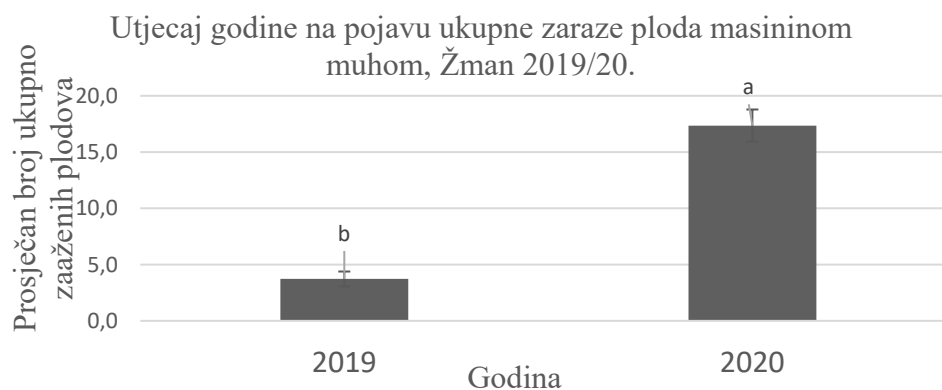
Eto= evapotranspiracija (meteorološka postaja Pinova)

Kc= korekcijski faktor za masline

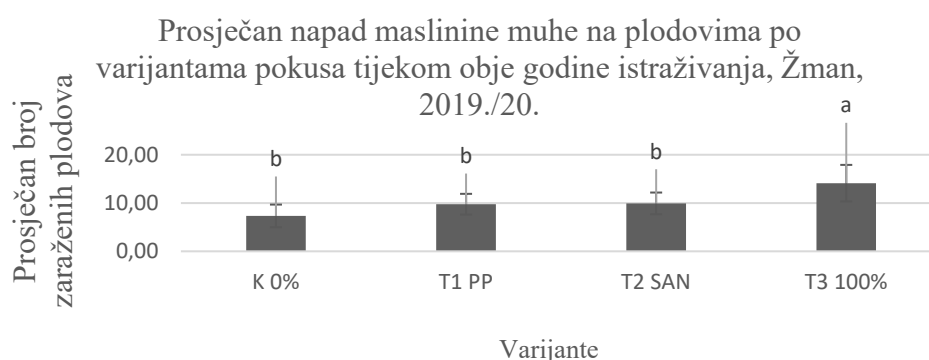
Prethodno je 8. listopada 2019. i 19. listopada 2020. godine s 24 stabla sorte Coratina u nasadu uzeto po 100 plodova sa svakog stabla te je u laboratoriju Odjela napravljena disekcija i pregled zaraženosti plodova maslininom muhom. Rezultati su obrađeni statistički programom SigmaPlot 11 (Systat Software, Inc., UK, 2020) koristeći se Kruskal–Wallis jednosmjernom analizom varijance s  $p < 0,05$ . U svrhu utvrđivanja povezanosti između utrošene vode u navodnjavanju i zaraze ploda programom MS Excel (Microsoft Office, 2016) utvrđena je povezanost s koeficijentom korelacije, a ovisno o njenoj jačini, provedena je i regresijska analiza.

## Rezultati i rasprava

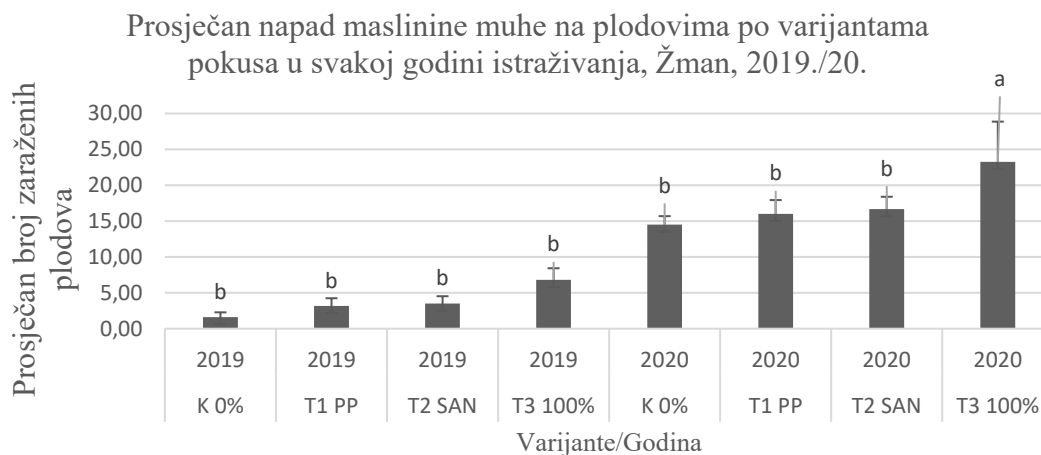
Grafikonom 1. prikazan je utjecaj godine na prosječnu zarazu ukupno svih pregledanih plodova tijekom svake godine istraživanja. Prosječan broj zaraženih plodova u 2019. bio je značajno niži nego u 2020. godini kad je iznosio 17,35. Grafikonom 2. prikazan je prosječan napad na plodovima po varijantama pokusa tijekom obje godine istraživanja. Statistička analiza pokazala je da postoji opravdana razlika među varijantama u pokusu kad je mjerena prosječna zaraza plodova maslininom muhom za obje godine zajedno. Varijante kontrola, SAN i PP međusobno se nisu razlikovale, dok je varijanta 100 % imala značajno više zaraženih plodova masline maslininom muhom te je iznosila 14,11 od pregledanih.



Grafikon 1. Utjecaj godine na pojavu ukupne zaraze ploda masininom muhom, Žman 2019/20.



Grafikon 2. Prosječan napad maslinine muhe na plodovima po varijantama pokusa tijekom obje godine istraživanja, Žman, 2019./20.

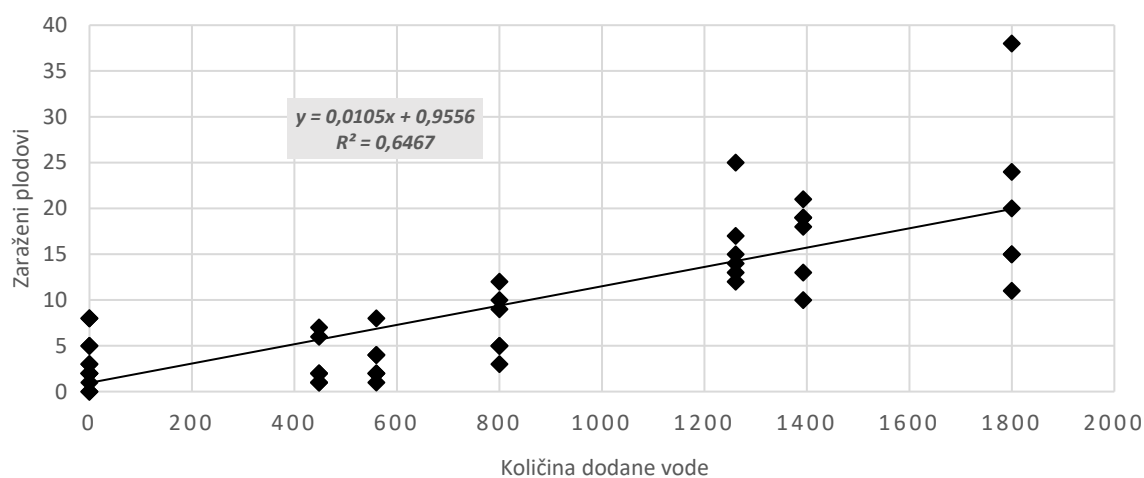


Grafikon 3. Prosječan napad maslinine muhe na plodovima po varijantama pokusa u svakoj godini istraživanja, Žman, 2019./20.

Statistička analiza pokazala je da postoji opravdana razlika među varijantama u pokusu kad je uspoređivana prosječna zaraza plodova maslininom muhom za svaku godinu posebno. Jedino se varijanta T3 - 2020. (100 %) značajno razlikovala od ostalih varijanti u pokusu tijekom svake godine u prosječnom broju zaraženih plodova masline maslininom muhom. Optimalni kvalitativni parametri ulja, prema Rallo i sur. (2018.) su na 80% ETc. U svakom

slučaju opravdano je smanjiti količinu dodane vode s ciljem povećanja kvalitete ulja. Bjeliš i sur., (2008.) utvrđuju veću zarazu plodova maslininom muhom u maslinicima gdje je provođeno navodnjavanje (do 59 %) u obje godine istraživanja, u dvije dalmatinske županije (Splitsko-dalmatinska, Zadarska), osim u godinama kad je njena populacija bila niska. Prema Quesada-Moraga i sur. (2018.), razina zaraženosti ploda maslininom muhom svake sorte obično je bila i ranije i nešto viša pod navodnjavanjem isključivo samo pod kišnim uvjetima. Naši rezultati kad pratimo zarazu plodova muhom, podržavaju taj trend jer je zaraza ploda muhom bila najviša kod 100 % ETc i isto tako utjecaj navodnjavanja na zarazu plodom je manji kad je populacija niža. Zaraza ploda na T3 (2020) iznosila je prosječno 23,25 od pregledanih. Slikom 1. prikazana je linearna regresija za odnos između utrošene vode za navodnjavanje i broja zaraženih plodova masline maslininom muhom.

Povezanost između utrošene vode za navodnjavanje i štete od muhe na plodu masline, Žman, 2019./20.



Slika 1. Povezanost između utrošene vode za navodnjavanje i štete od muhe na plodu masline, Žman, 2019./20.

Za odnos između utrošene vode za navodnjavanje i broja zaraženih plodova utvrđena je jaka povezanost s korelacijskim koeficijentom  $r=0,8041$ . Budući je ona visoka, određena je linearna povezanost sa sljedećom regresijskom jednadžbom:  $y=0,0105x + 0,9556$ . Kod svake dodane količine od 4,22L može se očekivati po jedan novozaraženi plod maslininom muhom.

### Zaključak

Različiti obroci vode navodnjavanjem utječu na zarazu plodova sorte maslina 'Coratina', maslininom muhom. Zaraza je u ispitivanim godinama najveća kad je voda dodavana u količini od 100 % ETc. Utvrđene su razlike između godina, varijanti i između godina i varijanti na prosječan broj zaraženih plodova. Godina ima značajan utjecaj na zarazu ploda. Postoji jaka povezanost između varijanti i oštećenja ploda.

### Napomena

Podaci za izradu rada prikupljeni su u sklopu projekta SAN („Smart agriculture network“) SAN-KK.01.2.1.01.0100). Projekt je odobren iz poziva na dostavu projektnih prijedloga „Praćenje razvoja novih proizvoda koji proizlaze iz aktivnosti istraživanja i razvoja (IRI)“.

## Literatura

- Bjeliš, M. (2005). Zaštita masline u ekološkoj proizvodnji. Solin. Vlastita naklada.
- Bjeliš, M., Masten Milek, T., Šimala, M. (2008). Olive fruit infestation by olive fruit fly *Bactrocera oleae* Gmel. In dry and irrigated growing conditions in Dalmacija, Cereal Research Communications 36: supplement: Proceedings of the VII. Alps-Adria Scientific Workshop, 28 April-2 May 2008, Stara Lesna, Slovakia, 1731-1734. DOI: 10.1556/CRC.36.2008.Suppl.1
- Husnjak, S., Magdić, I., Balog, N. (2019). Elaborat; Značajke antropogenih tala maslinika na području Novigrada u ravnim kotarima i Žmana na Dugom otoku, Projekt SAN jn-68/2018, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za pedologiju.
- Lozić, S., Radoš, D., Šiljeg, A. (2013). Klimatske značajke šireg područja Velog Rata na Dugom otoku. *Veli Rat*, Uglešić, A., Faričić, Josip (ed.). Zadar: Sveučilište u Zadru, str. 45-68.
- Ozimec, R., Karoglan Kontić, J., Maletić, E., Matotan, Z., Strikić, F. (2015). Tradicijske sorte i pasmine Dalmacije. Program Ujedinjenih naroda za razvoj, Ozimec, R., Mihinica, S., (ed.), Split: Kudos studio, str. 85.
- Pinova-meteo (2020.) Pinova Meteo stanica Dugi otok, u sklopu projekta PESCAR, podaci preuzeti dana 10.1.2021.
- Quesada-Moraga, E., Santiago-Álvarez, C., Cubero-González, S., Casado-Mármol, G., Ariza-Fernández, A., Yousef, M. (2018). Field evaluation of the susceptibility of mill and table olive varieties to egg-laying of olive fly. *Journal of applied entomology*. 00: 1–10. doi.org/10.1111/jen.12524
- Rallo, L., Díez, C. M., Morales-Sillero, A., Miho, H., Priego-Capote, F. Rallo, P. (2018). Quality of olives: A focus on agricultural preharvest factors. *Scientia horticultrae*. 233: 491–509.
- Serafini, F., Sbitri, M. O., Tombesi, A., Tombesi, S., d'Andria, R., Lavini, A., Saavedra Saavedra, M. M., Jardak, T., Fernández-Escobar, R. (2007). Production Techniques in Olive Growing. 1<sup>st</sup> ed. International Olive Council, Madrid, Spain: Artegraf, S.A. Spain, 346 str.
- SigmaPlot 11, (2020). Systat Software, Inc., San Jose California USA, Raspoloživo: www.systatsoftware.com.
- Večernik N. (2003). Maslina. Split: Adria Book d.o.o., str. 41-97.

## Irrigation effect on fruit attacked by olive fly (*Bactrocera oleae* Geml.) of cultivar "Coratina" (*Olea europaea* L.)

### Abstract

Aim of this study was to determine how various levels of irrigation water effect the infection of the fruits by olive fly larvae on variety 'Coratina'. Field experiment was conducted as part of a project (SAN-KK.01.2.1.01.0100) on 24 trees over 2 years (19/20) at Žman (Dugi otok). Irrigation was performed by a drip system with 4 variants in 3 repetitions. Field soil capacity for water was determined and evapotranspiration was calculated using Pinova™ meteorological station. ANOVA was conducted. Differences between years, variants and between years and variants on the average number of infected fruits were determined. A strong relationship between variants and fruit damage was determined and described by linear regression.

**Key words:** Coratina, fly, fruit, irrigation, Žman

## Učinak kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* i *Lachancea thermotolerans* na promjene u kemijskom sastavu vina 'Trnjak'

Marina Lavrić<sup>1</sup>, Ana Jeromel<sup>2</sup>, Tihomir Prusina<sup>1</sup>, Ana-Marija Jagatić Korenika<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Mostaru Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo, Biskupa Čule bb, 88000 Mostar, Bosna i Hercegovina

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska (amjagatic@agr.hr)

### Sažetak

*Saccharomyces cerevisiae* je najčešće korišteni selekcionirani kvasac u vinarskoj proizvodnji, a posljednjih godina selekcionirani su i brojni sojevi ne-*Saccharomyces* vrsta temeljem njihovih specifičnih svojstava. *Lachancea thermotolerans* je vrsta kvasca koja se ističe sposobnošću zakiseljavanja moštova niže ukupne kiselosti i više pH vrijednosti, iz toplih vinogradarskih regija te proizvodnji uravnoteženih vina. Cilj ovog rada bio je utvrditi učinak sekvencijalne inokulacije komercijalnih sojeva *L. thermotolerans* i *S. cerevisiae* na osnovni kemijski sastav, pojedinačne organske kiseline, ukupne fenole i antocijane u vinu sorte 'Trnjak' iz vinogorja Mostar. Spomenuti tretman uspoređen je s kontrolnim tretmanom s epifitnim kvascima i tretmanom s komercijalnim *S. cerevisiae* sojem. Rezultati analiza ukazali su značajan utjecaj kvasca *L. thermotolerans* na ukupnu kiselost, pH vrijednost te koncentraciju mliječne kiseline, čime se utječe na svježinu i stabilnost vina, vrlo značajne za vina toplom klimata. Značajno najviše koncentracije fenola i antocijana zabilježene su u tretmanima sa *S. cerevisiae* i epifitnim kvascima.

**Ključne riječi:** ne-*Saccharomyces*, sekvencijalna fermentacija, ukupna kiselost, pH vrijednost, mliječna kiselina

### Uvod

*Saccharomyces cerevisiae* je tradicionalno najkorištenija vrsta kvasca u proizvodnji vina zbog iznimnih fermentabilnih sposobnosti u velikom rasponu uvjeta provođenja alkoholne fermentacije. Međutim, grožđe nije sterilan medij i postoje mnoge vrste kvasaca s puno potencijala za rješavanje novih enoloških izazova (Benito i sur., 2015.). Među novim selekcijama ne-*Saccharomyces* kvasaca, *Lachancea thermotolerans* ističe se sposobnošću zakiseljavanja moštova iz toplih vinogradarskih regija, s manje ukupnih kiselina te proizvodnje uravnoteženih vina. *L. thermotolerans* u sekvencijalnoj inokulaciji sa *S. cerevisiae* pokazuje zanimljive rezultate, poput snižavanja pH vrijednosti i povećanja ukupne kiselosti temeljem sinteze L-mliječne kiseline. Ne-*Saccharomyces* kvasci imaju niske do umjerene fermentabilne sposobnosti pa proizvodnja vina nije u potpunosti moguća kada djeluju sami u čistim kulturama. *L. thermotolerans* osigurava alkoholnu jakost u rasponu od 5–9 % vol. pa se sekvencijalno inokulira sa *S. cerevisiae* za potpunu fermentaciju šećera (Morata i sur., 2019.). Snižavanje pH vrijednosti primjenom ovog kvasca u miješanim ili sekvencionalnim fermentacijama omogućuje i prisutnost više molekularnog SO<sub>2</sub>, što fermentaciju, a posebno proces dozrijevanja, čini sigurnijima (Morata i sur., 2018.). 'Trnjak crni' je sorta s još uvijek nedovoljno istraženim podrijetlom. Smatra se autohtonom sortom Imotske krajine i zapadne Hercegovine. Ističe se manjim prinosom i izrazito kvalitetnim sastavom mošta i vina. Uz visoku koncentraciju šećera od 20–26 % i nižu do srednju koncentraciju ukupnih kiselina (4.5–6 gL<sup>-1</sup>) ovisno o godini i terminu berbe, a karakterizira ga i visoka koncentracija polifenola. Vina su stoga puna, ekstraktna, s koncentracijom

alkohola od 12-15 vol%, intenzivno rubinske boje i vrlo ugodne arome (Mirošević i Turković, 2003., Sokolić, 2006., Maletić i sur., 2015.), ponekad neharmonična zbog niske ukupne kiselosti. Cilj ovog rada bio je po prvi puta istražiti utjecaj primjene sekvencijalne inokulacije kvasaca *L. thermotolerans* i *S. cerevisiae* na fizikalno-kemijski sastav, ukupne fenole i antocijane te organske kiseline u vinu 'Trnjak'.

## Materijali i metode

### Mikroorganizmi

Kvasci korišteni za pokretanje alkoholne fermentacije masulja sorte 'Trnjak' u kontrolnom tretmanu A bili su epifitni kvasci (spontana fermentacija), u tretmanu B primijenjena je sekvencijalna inokulacija s *L. thermotolerans* (Laktia, Lallemand) i *Sacharomyces cerevisiae* (BDX, Lallemand), a tretman C je inokuliran s čistom kulturom *S. cerevisiae* (Fermol Premier Cru, AEB).

### Proizvodnja vina

Grožđe sorte 'Trnjak' s položaja Potpolje (Mostarsko vinogorje, BiH) berbe 2019, korišteno je u istraživanju. Ukupno 150 kg grožđa je prerađeno, homogenizirano i podijeljeno u 3 plastične posude (A, B, C) zapremine 60 L te sulfitirano 5%-tnom  $H_2SO_3$ . Proces maceracije masulja trajao je 8 dana uz redovitu remontažu masulja svakih 12 sati. Koncentracija šećera u moštu bila je 92 °Oe, ukupna kiselost  $5.6 \text{ gL}^{-1}$  (kao vinska), a pH vrijednost 3.65. Tretman A kao kontrolna varijanta sulfitirana je s 50 mL 5%-tne  $H_2SO_3$ ; tretman B je sulfitiran s 10 mL 5%-tne  $H_2SO_3$  te inokuliran s kvascem *L. thermotolerans* (Laktia, Lallemand;  $15 \text{ g } 50 \text{ kg}^{-1}$ ), a nakon 24 h uslijedila je dodatna inokulacija sa *S. cerevisiae* (BDX, Lallemand;  $15 \text{ g } 50 \text{ kg}^{-1}$ ). Tretman C je sulfitiran s 50 mL 5%-tne  $H_2SO_3$  te inokuliran sa *S. cerevisiae* kvascem (Fermol Premier Cru, AEB;  $15 \text{ g } 50 \text{ kg}^{-1}$ ). Nakon 8 dana maceracije i alkoholne fermentacije, masulj tretmana A, B i C prešan je hidrauličnom prešom te je mošt u fermentaciji svakog pojedinog tretmana raspodijeljen u 3 repeticije, otakanjem u staklene posude volumena 10 L s vrenjačom, u kojima je nastavljena alkoholna fermentacija. U prvom pretoku, nakon završene fermentacije, izvršena je korekcija sulfita s  $5 \text{ mL } 5 \text{ L}^{-1}$  5%-tne  $H_2SO_3$ . Nakon 8 mjeseci, proveden je drugi pretok, korigirana je koncentracija sulfita s  $0.5 \text{ mL } 0.75 \text{ L}^{-1}$  5 %-tne  $H_2SO_3$ . Vino je napunjeno u staklene boce od 0.75 L i zatvoreno s plutenim čepom.

### Osnovna fizikalno-kemijska analiza vina

Koncentracije alkohola, ukupnog suhog ekstrakta, ekstrakta bez šećera, reducirajućih šećera, pepela, ukupne kiselosti, hlapljive kiselosti te pH vrijednost analizirane su standardnim metodama prema O.I.V. (2012.).

### Analiza organskih kiselina

Pojedinačne organske kiseline u moštu, nakon 8 dana maceracije/fermentacije i u vinu, određene su tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, HPLC-DAD (Agilent 1100, Palo Alto, SAD). Uzorak mošta ili vina filtrirao se primjenom membranskog filtra veličine pora  $0.22 \mu\text{m}$  te se potom izravno injektirao. Analiza je provedena uz izokratno eluiranje pri protoku od  $0.6 \text{ mL min}^{-1}$  s 0.065 % fosfornom kiselinom (Merck, Njemačka), temperaturi kolone (Aminex HPX-87H 300 x 7.8 mm; Bio-Rad Lab., USA) od  $65 \text{ }^\circ\text{C}$  i detekciji pri 210 nm.



### Analiza polifenolnih spojeva

Ukupni fenolni (UF) spojevi u vinu određeni su uz pomoć Specord 400 (Analytik Jena, Njemačka) prema metodi Singelton i Rossi (1965.) koja se temelji na kolornoj reakciji fenolnih spojeva sa Folin-Ciocalteu reagensom. Ukupni fenoli su izraženi u  $\text{mgL}^{-1}$  ekvivalenta galne kiseline (GAE). Ukupni antocijani u vinu analizirani su spektrofotometrijski, također. Postupak određivanja antocijana obavljen je razrjeđivanjem vina 20 do 50 puta u etanol kloridu ( $\text{EtOH:HCl:H}_2\text{O}=70:30:1$ ). Očitana apsorbancija mora biti u intervalu između  $0.3 < A < 0.6$  pri valnoj duljini 540 nm. Vrijednost apsorbance se računa kao aritmetička sredina tri mjerenja. Ukupni sadržaj antocijana izražava se kao ekvivalent malvidin-3-glukozida i izračunava se pomoću formule: ukupni antocijani ( $\text{mgL}^{-1}$ ) =  $A \times 20 \times D$ , gdje A označava apsorbancu pri 540 nm, a D je faktor razrjeđenja (Ivanova i sur., 2009.).

### Statistička analiza

Razlike u fizikalno kemijskim i polifenolnim (ukupni fenoli i antocijani) vina sorte 'Trnjak' dobivenih inokulacijom različitim kvascima testirane su analizom varijance (ANOVA) uz t-test, pri  $p \leq 0.05$ . Statistička analiza provedena je koristeći SAS System za Windows 9.0, 2004 (SAS Institute Inc., USA).

### Rezultati i rasprava

Analizom rezultata osnovnih parametara kakvoće vina (Tablica 1.) vidljivo je kako se koncentracija alkohola u vinu tretmana C značajno razlikovala (11.24 % vol.) u odnosu na tretmane A i B pri čemu nema razlika u koncentraciji rezidualnih šećera između tretmana. Svi analizirani uzorci vina nalaze se u kategoriji suhih vina ( $> 4 \text{gL}^{-1}$  šećera) što upućuje na to da je *L. thermotolerans* sekvencijalno inokulirana sa *S. cerevisiae*, provela fermentaciju do kraja (Ciani i sur., 2016., Kapsopoulou i sur., 2007.), međutim, nije došlo do smanjenja koncentracije alkohola kao što su objavili drugi autori (Benito i sur., 2016; Dutraive i sur., 2019). Najviše vrijednosti ukupnog ekstrakta i pepela zabilježene su u tretmanu B, a najniže u tretmanu spontane fermentacije. Najviša koncentracija ukupne kiselosti zabilježena je kod tretmana B ( $6.90 \text{gL}^{-1}$ ) što upućuje na značajan utjecaj sekvencijalne inokulacije na povećanje koncentracije ukupnih kiselina ( $\pm 2.5 \text{gL}^{-1}$ ), uz značajno smanjenje pH vrijednosti, u odnosu na ostale uzorke što je u skladu s većinom istraživanja (Morrata i sur., 2019., Comiti i sur., 2011., Dutraive i sur., 2019., Benito 2018.). Time se postiže mikrobiološka stabilnost vina, što je iznimno važno za vina južnijih vinogorja s nižim ukupnim kiselina i povišenom pH vrijednošću. Istraživanje Dutraive i sur. (2019) pokazalo je da koinokulacija kvasca *L. thermotolerans* s *S. cerevisiae* rezultira većim smanjenjem pH u odnosu na koinokulaciju *S. cerevisiae* s drugim ne-*Saccharomyces* kvascem. Koncentracija hlapljive kiselosti u rasponu od  $0.32$  do  $0.37 \text{gL}^{-1}$  nisu se značajno razlikovale među tretmanima iako su drugi autori objavili i utjecaj *L. thermotolerans* na smanjenje hlapljive kiselosti u vinu (Ciani i sur., 2006; Comitini i sur., 2011.).

Mliječna kiselina je, prema rezultatima analize u tretmanu B, bila prisutna već do osmog dana fermentacije, a kasnije u vinu zabilježena je najviša koncentraciju u odnosu na druge tretmane,  $0.32 \text{gL}^{-1}$  što je unutar objavljenih raspona od  $0.18$  do  $5.13 \text{gL}^{-1}$  odnosno  $0.24$  do  $3.18 \text{gL}^{-1}$  (Kapsopoulou i sur., 2007.; Benito i sur., 2015.). U istraživanju Dutraive i sur. (2019.) koncentracija mliječne kiseline u sekvencijalnoj fermentaciji s *L. thermotolerans* bila je značajno najviša u odnosu na druge sojeve kvasaca i iznosila je  $1.51 \text{gL}^{-1}$ .

Koncentracije jabučne kiseline kod autohtonih kultivara s područja Dalmacije prema Preiner i sur. (2013.) kreću se od 0.3 do 3.4 gL<sup>-1</sup>. Koncentracija jabučne kiseline u moštu 'Trnjak' bila je 1.8 gL<sup>-1</sup> i smanjivala se tijekom fermentacije i to najviše u tretmanima A i C, što može biti rezultat metabolizma kvasaca (Dutraive, 2017), obzirom da nije zabilježena značajna koncentracija mliječne kiseline koja bi upućivala na rad MLF bakterija. Prisutnost jantarne kiseline u vinu vezana je za metabolizam kvasaca tijekom alkoholne fermentacije, a najviša koncentracija zabilježena je u varijanti B (0.45 gL<sup>-1</sup>). Prema Coulter i sur. (2004.), koncentracija jantarne kiseline u 93 crnih vina iz Australije, kretala se su rasponu od 0.1 - 2.6 gL<sup>-1</sup>.

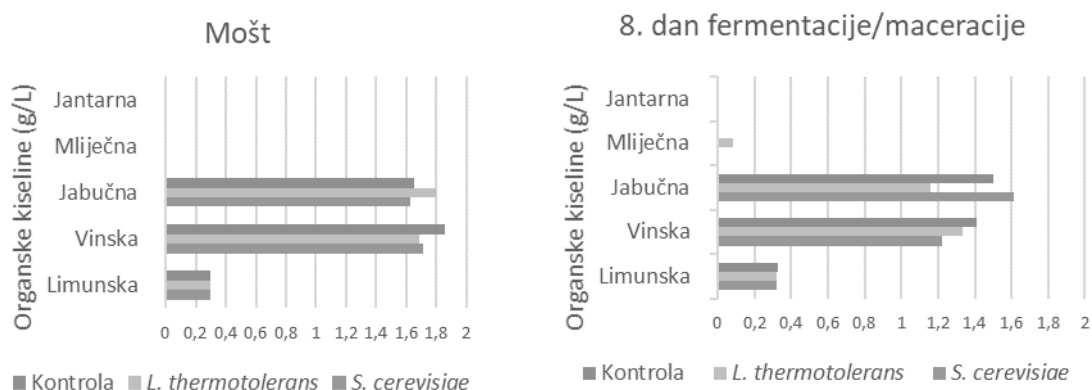
Intenzitet boje vina ovisi o koncentraciji antocijana i pH vrijednosti (Morata i sur., 2019.). Udio ukupnih antocijana u vinima svih tretmana bio je unutar raspona koncentracija za crna vina autohtonih sorata (50.7 do 315.9 mgL<sup>-1</sup>) u istraživanju Maletića i sur. (2009.), pri čemu je značajno najviša koncentracija zabilježena u tretmanu A, dok je u tretmanu sekvencijalne inokulacije bilo više nego u tretmanu sa *S. cerevisiae*, što je u skladu s ostalim istraživanjima (Benito i sur., 2015; 2018).

Tablica 1. Utjecaj inokulacija različitim kvascima na fizikalno-kemijske parametre vina sorte 'Trnjak'

	A (kontrola)	B ( <i>L.therm. x S. c.</i> )	C ( <i>S. cerevisiae</i> )
Alkohol (% vol.)	11.80±0.01 <sup>a</sup>	11.70±0.05 <sup>a</sup>	11.24±0.07 <sup>b</sup>
Uk.suhi ekstrakt (gL <sup>-1</sup> )	23.73±0.56 <sup>c</sup>	29.10±0.20 <sup>a</sup>	25.60±0.10 <sup>b</sup>
Ekst. bez šećera (gL <sup>-1</sup> )	22.70±0.15 <sup>c</sup>	28.07±0.25 <sup>a</sup>	24.50±0.10 <sup>b</sup>
Reduc.šećeri (gL <sup>-1</sup> )	1.03±0.06 <sup>a</sup>	1.03±0.00 <sup>a</sup>	1.10±0.00 <sup>a</sup>
Pepeo (gL <sup>-1</sup> )	3.41±0.05 <sup>b</sup>	3.88±0.03 <sup>a</sup>	3.82±0.06 <sup>a</sup>
Ukupna kiselost (gL <sup>-1</sup> )	4.82±0.35 <sup>b</sup>	6.90±0.13 <sup>a</sup>	4.25±0.17 <sup>c</sup>
Hlapljiva kiselost (gL <sup>-1</sup> )	0.37±0.07 <sup>a</sup>	0.35±0.06 <sup>a</sup>	0.32±0.06 <sup>a</sup>
pH	3.86±0.02 <sup>b</sup>	3.76±0.01 <sup>c</sup>	4.02±0.00 <sup>a</sup>
Ukupni fenoli (mgL <sup>-1</sup> )	1054.58±2.32 <sup>b</sup>	919.09±7.72 <sup>c</sup>	1087.19±9.11 <sup>a</sup>
Ukupni antocijani (mgL <sup>-1</sup> )	280.50±1.80 <sup>a</sup>	241.17±2.02 <sup>b</sup>	228.67±1.89 <sup>c</sup>

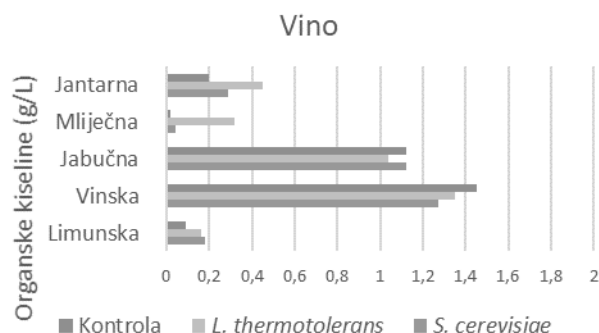
Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost ± standardna devijacija (n=3). Značajne razlike pri p ≤ 0.05 prikazane su različitim slovima u istom redu

Rezultati analize ukupnih fenola kreću se od najniže vrijednosti 919.09 mgL<sup>-1</sup> u tretmanu B do najviše vrijednosti 1087.19 mgL<sup>-1</sup> u tretmanu C s kvascem Fermol Premier Cru, koji je selekcioniran zbog sposobnosti veće ekstrakcije polifenola i boje iz grožđa (AEB).



Grafikon 1.a) Organske kiseline u moštu

Grafikon 1.b) Vino nakon 8 dana fermentacije/maceracije sorte 'Trnjak' (n=3)



Grafikon 2. Organske kiseline u vinu 'Trnjak' (n=3)

## Zaključak

Usporedba rezultata tri različita fermentacijska pokusa pokazala je razlike u fizikalno-kemijskim i polifenolnim svojstvima vina te pozitivan utjecaj istraživanog soja kvasca *Lachancea thermotolerans* na kakvoću vina 'Trnjak'. Zabilježeno povećanje ukupne kiselosti i smanjenje pH vrijednosti temeljem sinteze mliječne kiseline, jedan je od mogućih načina postizanja svježine vina i važan čimbenik senzornih svojstava, stabilnosti boje, mikrobiološke stabilnosti te potencijala vina za dozrijevanje.

## Literatura

- AEB, [www.aeb-group.com](http://www.aeb-group.com), pristupljeno 07.01.2020.
- Benito Á., Calderón F., Palomero F., Benito S. (2015). Combine use of selected *Schizosaccharomyces pombe* and *Lachancea thermotolerans* yeast strains as an alternative to the traditional malolactic fermentation in red wine production. *Molecules*. 20:9510–9523.
- Benito S. (2018). The impacts of *Lachancea thermotolerans* yeast strains on winemaking. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 102:6775–6790.
- Ciani M., Morales P., Comitini F., Tronchoni J., Canonico L., Curiel J.A., Oro L., Rodrigues A.J., Gonzalez R. (2016). Non-conventional yeast species for lowering ethanol content of wines. *Frontiers in Microbiology*. 7:642.
- Comitini F., Gobbi M., Domizio P., Romani C., Lencioni L., Mannazzu I. (2011). Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology*. 28(5):873-882.
- Coulter A. D., Godden P. W., Pretorius I. S. (2004). Succinic acid - How it is formed, what is its effect on titratable acidity, and what factors influence its concentration in wine? *Australian and New Zealand Wine Industry Journal*. 19(6): 16-25.
- Dutraive O., Benito S., Fritsch S., Beisert B., Patz C.D., Rauhut D. Effect of Sequential Inoculation with Non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces* Yeasts on Riesling Wine Chemical Composition. (2019) *Fermentation*. 5:79.
- Grba S. (2010). Kvasci u biotehnoškoj proizvodnji. Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu = Manualia Universitatis studiorum Zagrabiensis
- Ivanova V., Stefova M., Chinnici F. (2010). Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 75(1):45-49.
- Kapsopoulou K., Mourtzini A., Anthoulas M., Nerantzis E. (2007). Biological acidification during grape must fermentation using mixed cultures of *Kluyveromyces thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 23: 735–739.
- Maletić E., Karoglan Kontić, J., Pejić, I., Preiner, D., Zdunić, G., Bubola, M., Stupić, D., Andabaka Ž., Marković Z., Šimon S., Žulj Mihaljević M., Ilijaš I., Marković D. (2015). Zelena knjiga Hrvatske izvorne sorte vinove loze. Državni zavod za zaštitu prirode. Zagreb.

- Maletić E., Karoglan Kontić J., Preiner D., Jeromel A., Patz C.D., Dietrich H. (2009). Anthocyanin profile and antioxidative capacity of some autochthonous Croatian red wines. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 7(1): 48-51.
- Mirošević N., Turković Z. (2003). *Ampelografski atlas*. Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb, Hrvatska.
- Morata A., Bañuelos M. A., Vaquero C., Loira I., Cuerda R., Palomero F. (2019). *Lachancea thermotolerans* as a tool to improve pH in red wines from warm regions. *European Food Research and Technology*. 24, 5(4):885-894.
- Morata A., Escott C., Loira I., Del Fresno J.M., González C., Suárez-Lepe J. A. (2019). Influence of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts in the Formation of Pyranoanthocyanins and Polymeric Pigments during Red Wine Making. *Molecules*. 24(24):4490.
- Morata, A., Loira, I., Tesfaye, W., Bañuelos, M. A., González, C., Suárez Lepe, J. A. (2018). *Lachancea thermotolerans* Applications in Wine Technology. *Fermentation* 2018, 4,53.
- O.I.V. (2012). *International code of oenological practices*, 01, Paris.
- Ough C. S., Amerine M. A. (1988). *Methods for analysis of musts and wines*, John Wiley & Sons Inc, Hoboken, New York, USA.
- Preiner D., Tupajić P., Karoglan Kontić J., Andabaka Ž., Marković Z., Maletić E. (2013) Organic acids profiles of the most important Dalmatian native grapevine (*V. vinifera* L.) cultivars. (2013). *Journal of Food Composition and Analysis*. 32 (2):162-168.
- Singleton V.L., Rossi J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144-158.
- Sokolić I. (2006). *Veliki vinogradarsko vinarski leksikon*. vlastita naklada, Novi Vinodolski, Hrvatska.

## Effect of yeast *Saccharomyces* sp. and *Lachancea thermotolerans* on changes in the chemical composition of Trnjak wine

### Abstract

*Saccharomyces cerevisiae* is the most commonly used selected yeast in wine production, and in recent years numerous strains of non-*Saccharomyces* species have been selected based on their specific properties. *Lachancea thermotolerans* is a type of yeast that stands out for its ability to acidify musts with lower total acidity and higher pH values, from warm wine-growing regions and the production of balanced wines. The aim of this study was to determine the effect of sequential inoculation of commercial strains of *L. thermotolerans* and *S. cerevisiae* on the basic chemical composition, individual organic acids, total phenols and anthocyanins in wine of the variety Trnjak from the Mostar region. Mentioned treatment was compared with control treatment (epiphytic yeasts) and treatment with commercial *S. cerevisiae* strain. The results of the analyzes indicated a significant influence of the yeast *L. thermotolerans* on the total acidity, pH value and lactic acid concentration, which affects the freshness and stability of the wine, which is very important for wines with a warm climate. Significantly higher concentrations of phenols and anthocyanins were recorded in treatments with *S. cerevisiae* and epiphytic yeasts.

**Keywords:** Non- *Saccharomyces*, mixed yeast culture, total acidity, pH, lactic acid

## Application of edible coatings on Satsuma mandarin fruits from Neretva Valley

Luna Maslov Bandić<sup>1</sup>, Goran Fruk<sup>2</sup>, Kristina Vlahoviček Kahlina<sup>1</sup>, Kristina Sopko Stracenski<sup>1</sup>, Slaven Jurić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetošimunska 25, Zagreb, Croatia (lmaslov@agr.hr)

<sup>2</sup> Department of Pomology, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetošimunska 25, Zagreb, Croatia

### Abstract

Satsuma mandarins are a citrus fruit that has great popularity in Croatia. The experiment was carried out during 2020 to assess the effect of postharvest treatments on the quality and shelf life of mandarin fruits. The postharvest treatments were different edible coatings: 0.5 % and 1 % hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), 1 % and 2 % arabic gum. The experiment was conducted for 10 days of storage at room temperature. Results from this preliminary study indicate that postharvest coatings arabic gum and HPMC during storage can effectively inhibit increases in weight loss rates, and preserve bioactive compounds. The storage life was prolonged and antioxidant activity increased in coating-treated fruit.

**Keywords:** edible coatings, Satsuma mandarins, bioactive compounds, polysaccharides

### Introduction

Edible coatings can be made from a variety of polysaccharides such as chitosan, alginate, gums, cellulose, etc. Polysaccharide-based coatings have many advantages: they are low-cost, biodegradable, and water-soluble; hence they do not require organic solvents before or during application (Debeaufort et al., 1998). Besides, polysaccharides have well-defined chemical structures that allow for the tuning of their coating properties. Citrus fruits enjoy great popularity all over the world, due to their taste, beneficial nutrients, and widespread availability (Liu et al., 2012). Postharvest treatments with conventional synthetic waxes and/or chemical fungicides such as imazalil (IMZ), thiabendazole (TBZ), sodium ortho-phenil phenate (SOPP) or other active ingredients have been used for many years and are still currently used in citrus packing houses to preserve fresh fruit, control postharvest decay, and extend fruit shelf life (Gonzalez-Aguilar et al., 2010). Satsuma mandarins are the most commonly produced fruit in Croatia and annual production is 52 060 tonnes for 2019 (FAO, 2020). In this preliminary research, we performed a set of experiments on polysaccharide-based coatings such as hydroxypropyl methylcellulose, and arabic gum applied for the first time on Satsuma mandarins from Croatia. The aim of this research was to study the effects of different coatings on the preservation of physicochemical properties of mandarin fruits at room temperature. We have tested different coatings on mandarin fruits quality with special emphasis on bioactive components such as total phenols, flavonoids, and antioxidant capacity at room temperature for 10 days.

### Material and methods

#### *Fruits*

Fruits of the variety 'Kawano Wase' (Satsuma mandarins) were harvested at Neretva valley, Opuzen (GPS coordinates of the orchard: N 43.002225589037906, E 17.559560108339532)

on October 17, 2020. The fruits were immediately transported to the laboratory at Department of Chemistry, Faculty of Agriculture, Zagreb. The fruits with uniform maturity, size, color, and no disease, insect, or mechanical damage were selected. The fruits were washed with tap water and then dried at room temperature before coating treatment. The mandarin fruits were randomly divided into 5 groups (20 fruits per group) : 4 experimental coating treatments, one control (uncoated). The mandarins were dip-coated by immersion in the coating solutions for 30 seconds, followed by draining the excess solution and hot air-dried by a fan for 2 minutes. After coating, fruits were stored for 10 days at  $21 \pm 3$  °C and 50–60% RH. Samples (4 fruits per treatment) were taken every 3 days for chemical analyses.

#### *Preparation of edible coatings*

Edible coatings hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) and arabic gum purchased from Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA) were prepared in following (w/v) percentages in distilled water: 0.5 % and 1 % HPMC and 1 % and 2 % arabic gum.

#### *Weight loss*

Every 2 days weight loss and color measurement of the peel of the manarin fruit were performed. Color measurement was performed by colorimeter (PCA-CSM 2, Germany). The weight loss was calculated as a percentage loss relative to the initial mass. The precision balance (Shimadzu AX 200, Japan) used for the weight measurements had an accuracy of 0.1 mg.

#### *Total phenols content*

For the determination of TPC, a modified Singleton et al. (1999) method was used. A volume of 100  $\mu$ m of hand-squeezed mandarin juice was mixed with 7.9 mL of distilled water and 0.5 mL Folin Ciocalteu's reagent (diluted with distilled water in 1:2 ratio). The suspension was mixed with 1.5 mL of 20 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (w/v) and vortexed. After 2 hours absorbance was measured at 765 nm using a UV-visible spectrophotometer (Shimadzu, UV-1700, Japan) and the results were expressed as gallic acid equivalents per L of juice (mg GAE/L).

#### *Total flavonoids content*

TFC was determined using a modified spectrophotometric method of Ivanova et al. (2010). A volume of 1 mL of mandarine juice was added in a 10 mL volumetric flask containing 4 mL of distilled water. 300  $\mu$ L of  $\text{NaNO}_2$  (0.5 g/L) solution was added to the suspension and after 5 minutes, 300  $\mu$ L of  $\text{AlCl}_3$  (1 g/L) solution. After 6 minutes, 2 mL of NaOH (1 mol/L) was added to the mixture. The final volume was set to 10 mL with the addition of distilled water. Absorbance was measured at 360 nm and calculated as mg quercetin equivalents per L of juice (mg QE/L).

#### *Antioxidant capacity*

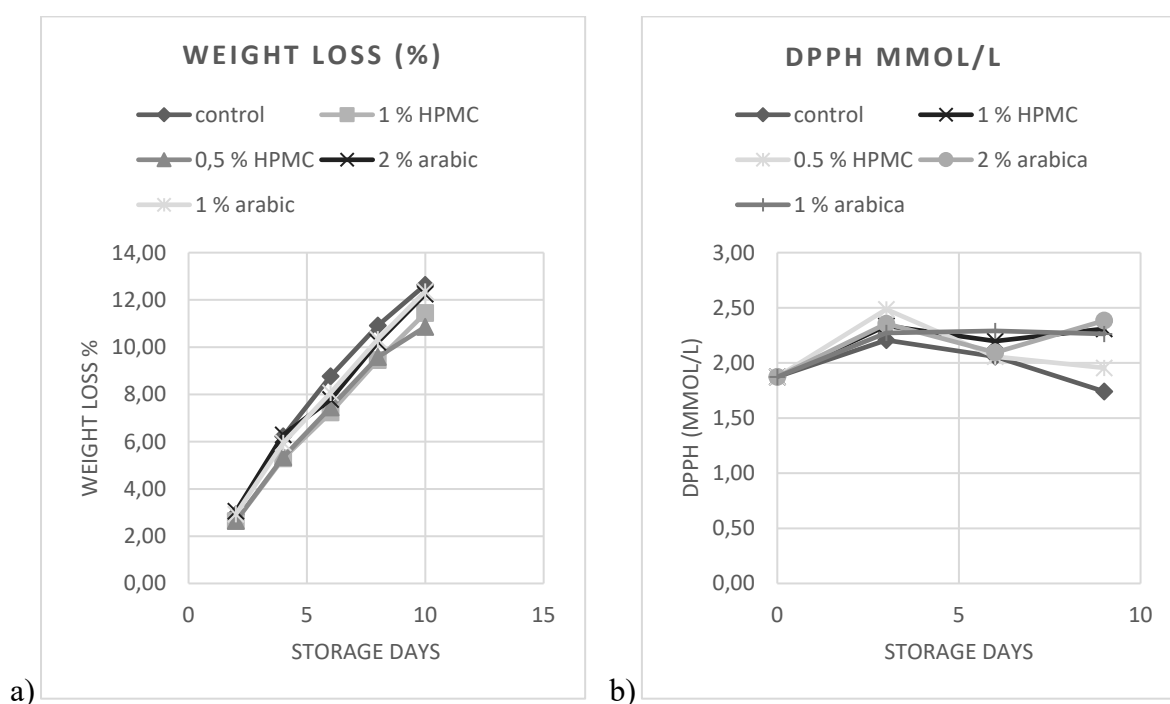
The antioxidant capacity of mandarine juices was determined using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) reagents, according to the well-known procedures of Brand-Williams et al. (1995) and Re et al. (1999), respectively. The results were expresses as  $\mu$ mol Trolox equivalents per L of juice ( $\mu$ mol TE/L).

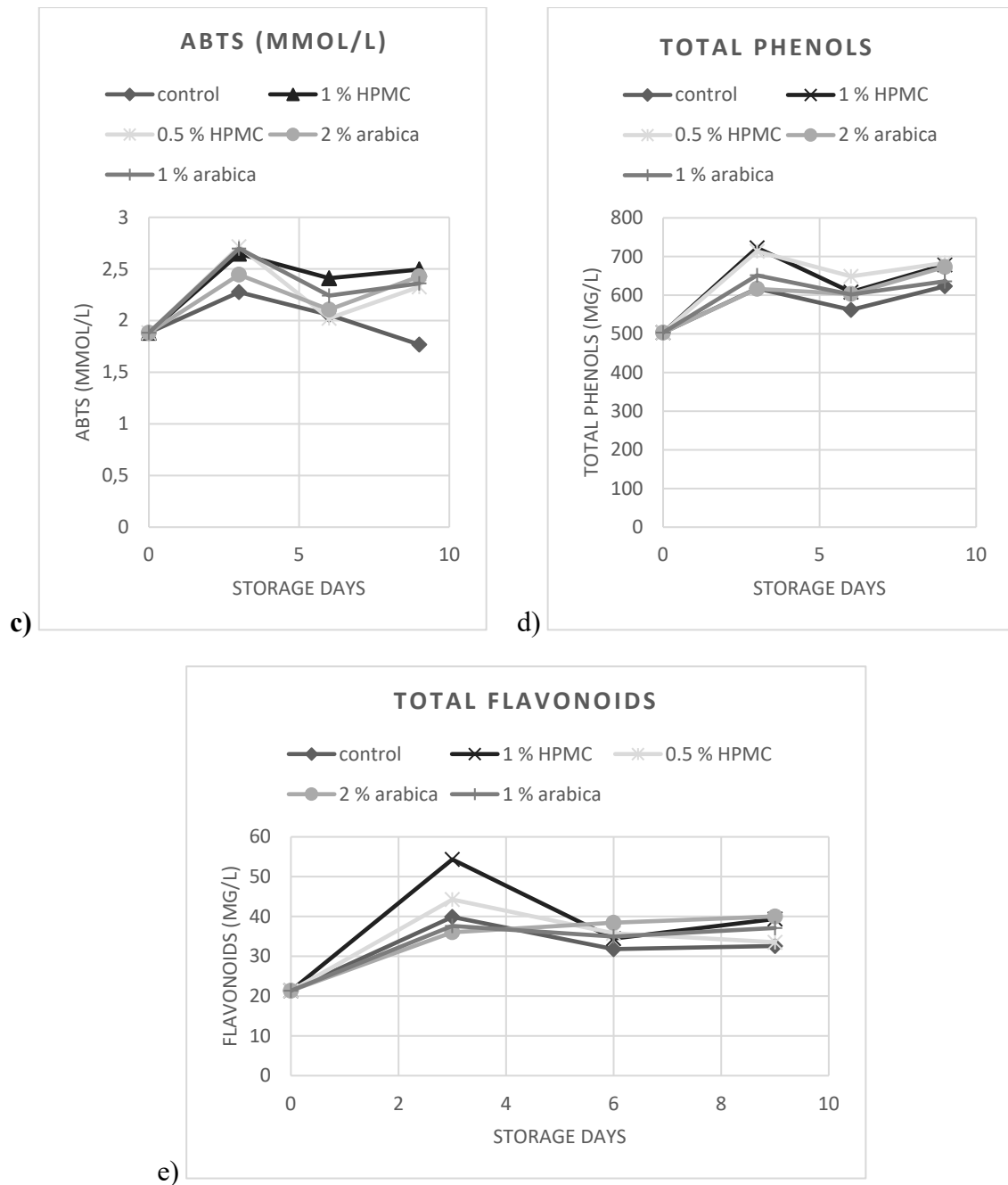
## **Results and discussion**

Fruit weight loss is associated with respiration and transpiration through the skin. The rate at which water is lost depends on the water pressure gradient between the fruit tissue and the ambient environment and the temperature of storage. Dehydration also induces a rise in fruit wounds on the surface. Edible coatings serve as barriers, thereby preventing the transfer of

water and protecting fruit skin from mechanical injuries, as well as sealing small wounds and thereby avoiding dehydration (Nasrin et al., 2018). Weight loss increased gradually during storage period (Figure 1.a). Minimum weight loss (10.86 %) was observed in fruits treated with 0.5 % HPMC, followed by 1 % (w/v) HPMC, 2 % (w/v) and 1 % arabic gum coatings with the weight loss 11.20 %, 11.44%, 12.64 % respectively. The maximum weight loss was observed in control (13.26%). Antioxidant activity (ABTS and DPPH) during storage of mandarins was also observed (Figure 1b and 1c). After nine days antioxidant activity of control was lower than the first day and could be explained by possible senescence and decay. Coated mandarins had generally higher antioxidant activity after storage of 9 days. Similarly, Puttonsgiri et al. (2010) demonstrated that juice extracted from coated mandarin fruits stored at room temperature had increased antioxidant activities. As can be seen from Figure 1. d) and e) total phenols and total flavonoids recorded an increase in all coated fruits during 10 days of storage.

Coatings 0.5 % HPMC and 1 % HPMC followed a changing pattern of increasing dramatically during the early storage (3 days), and then decreasing as time progressed. These results are supported by Machado et al. (2014) and Haider et al.(2017) who reported a slight increase in phenolic contents during initial storage. According to Gonzalez-Aguilar et al. (2010), edible coatings change the internal atmosphere of fresh produce, promoting the accumulation of secondary metabolites and ascorbic acid.





**Figure 1.** Effects of edible coatings on the a) weight loss b) antioxidant activity DPPH c) antioxidant activity ABTS d) total phenols and e) total flavonoids of mandarin stored at room temperature

## Conclusion

Results from this preliminary study indicate that postharvest coatings (arabic gum and hydroxypropylmethylcellulose) during storage can effectively inhibit increases in weight loss rates and freshness. The storage life was prolonged and antioxidant activity increased in coating-treated fruit. Furthermore, secondary metabolites were maintained at high levels in the coating-treated fruit. Edible coatings may represent a safe method for preserving fruit.



## Acknowledgement

The results presented in the paper are from research projects HRZZ UIP-2020-02-7496 „Mandarins from Neretva Valley-Chemical characterization and innovative postharvest treatments“.

## References

- Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 28:25–30.
- Debeaufort F., Quezada-Gallo J.A., Voilley A. (1998) Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 38(4):299-313.
- FAO, FAOSTAT (2020)
- Gonzalez-Aguilar G. A., Villa-Rodriguez J. A., Ayala-Zavala J.F., Yahia E. M. (2010). Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. *Trends in Food Science & Technology* 10:475-482.
- Haider S. T., Ahmad S., Khan A. S., Basra M. A. (2017). Comparison of different fruit coatings to enhance the shelflife of Kinnow mandarin. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 54(1):34-55.
- Ivanova V., Stefova M., Chinnici F. (2010). Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *Journal of the Serbian Chemical Society* 75 (1):45-59.
- Liu Y. Q., Heying E., & Tanumihardjo S. A. (2012). History, Global Distribution, and Nutritional Importance of Citrus Fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 6: 1541-4337.
- Machado F. L., Lima R. M., Elvis R. E., Figuerido R. W. (2014). Influence of waxing coupled to 1-methylcyclopropan on compositional changes in early harvested Gold pineapple for export. *Acta Scientia* 2:219-225.
- Nasrin T. A. A., Islam M. N., Rahman M. A., Arfin M. S., Ullah M. A. (2018). Evaluation of postharvest quality of edible coated mandarin at ambient storage. *International Journal of Agricultural Research, Innovation and Technology* 8: 18-25.
- Puttongsiri T., Haruenkit R. (2010). Changes in Ascorbic Acid, Total Polyphenol, Phenolic Acids and Antioxidant Activity in Juice Extracted from Coated Kiew Wan Tangerine During Storage at 4, 12 and 20°C. *Kasetsart Journal-Natural Sciences* 44: 280-289.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26:1231–37.
- Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. N. (1999). Analysis of total phenol and other oxidation sub-strates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299:152–78.

## Smart Agriculture: Machine Learning in Modelling Wine Quality Based on Laboratory or IoT Sensory Analysis

Dijana Oreški, Igor Pihir, Nikola Kadoić

*Faculty of Organization and Informatics, University of Zagreb, Pavlinska 2, 42000 Varaždin, Croatia (dijana.oreski@foi.unizg.hr)*

### Abstract

Agriculture is undergoing a Digital Transformation by use of emerging or Industry 4.0 technologies. Emerging technologies like IoT, Big Data, Data Analytics, Drones, and others, are rapidly implemented in so-called "Smart Agriculture". These technologies boost productivity, improve predictions, manage uncertainty and introduction of innovations, making producers more competitive.

This paper deals with testing, the concept of using IoT, Big Data, Data Analytics and Machine Learning to model and predict wine quality.

Prediction model is tested on publicly available dataset. Research results based on physicochemical properties of wines shows good results for wine quality prediction. Research is part of EU funded project Center of Competences for Digital Transformation of the Food Industry in Rural Areas.

**Key words:** smart agriculture, machine learning, wine quality, IoT, modelling

### Introduction

Smart Agriculture and use of emerging technologies (Industry 4.0 technologies) in Digital Transformation of businesses is growing every day and field of agriculture is no exception (Digital Transformation Monitor, 2017). Selection of these technologies (Furjan Tomičić, Pihir and Tomičić-Pupek, 2019) and integration to legacy systems (Kutnjak, Pihir, Tomičić-Pupek, 2020) is very important to achieving business goals especially in challenging times of worldwide pandemic. These conditions (disruptions) also produce new and innovative ways of process improvements and business processes optimizations. Focused, on wine production there is a lot of recent research in use IoT and other technologies in grape production (Trilles Oliver et al., 2018) and wine production (Robinson, 2019). From meteorology prediction, soil characteristics, grape growth and quality, fermentation control and finally quality wine (Masetti et al., 2018) and bringing new benefits for organic wine industry (Mangiaracina et al., 2016).

Determining wine quality and its certification is an expensive and long-term process since the whole assessment is done "manually" by experts. This research strives to move forward towards automatization and simplification of the process by digital transformation of the process and applying machine learning. Based on the available set of data based on physicochemical properties (for white and red wines) obtained from laboratory research and IoT data (UCI Machine learning Repository, 2009), this paper will focus on finding properties that affect wine quality using the machine learning method: neural networks. The aim of the paper is to develop predictive model with the help of which it is possible to predict the quality of wine, and thus automate and simplify the whole process.

Paper is structured as follows. Second section describe material and methods, in which short literature review is given, and methodology and data are explained. Third section gives results and discussion, in which the neural network model architecture is presented and results are discussed. Paper ends with conclusion, acknowledgment and references.

### **Material and methods**

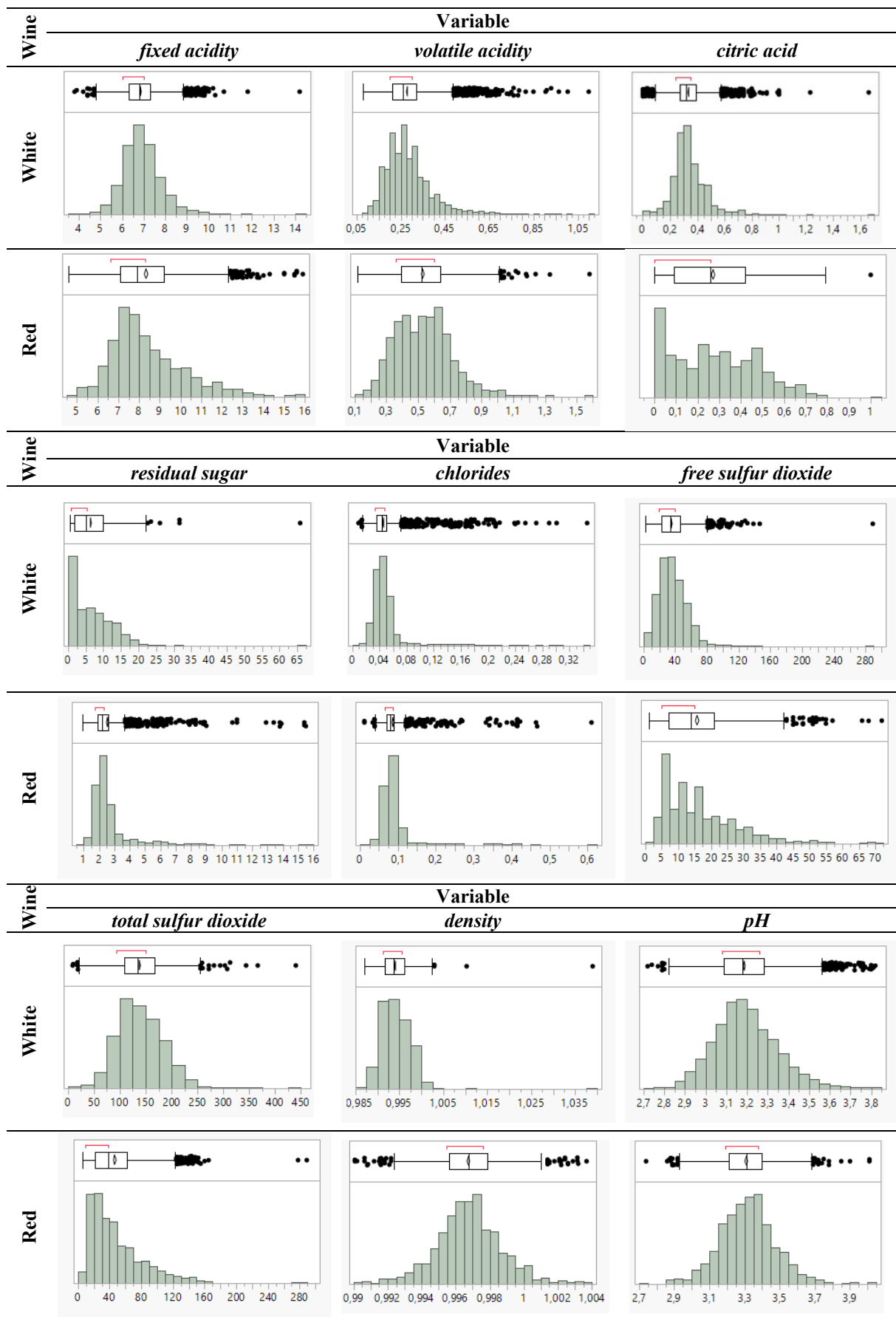
In spirit of “Smart Agriculture” several applications of similar researches and used methods are presented. Nachev and Hogan (2013) examine the use of data mining techniques to facilitate the certification process of wine quality products. The sets of physical properties of white and red wines are observed, on the basis of which predictive models are developed with the aim to predict the quality of wine. In their research, following data mining techniques are used: neural networks and support vector machines (SVM). These techniques are used with 11 input physicochemical properties, for 4898 samples of white and 1599 samples of red wine. Their results indicated high accurate models based on neural networks. These results were motivation for our work. Within this research, we tried to further enhance predictive neural network model by data transformation and preparation. Feilhauer (2013) in his research creates models for predicting wine quality with a level of precision higher than previous research on the same data set. The models are based on linear regression and neural network. Ribeiro et al. (2009) examine the physicochemical properties of wine and associate them to the output attribute of wine quality, combined with experience through the human senses - in this case they are color, taste and sparkling level. The following methods were used to develop the model: decision trees, artificial neural networks and linear regression (LR). Based on the previous research, this paper employs artificial neural network methodology in order to model wine quality by which manual testing of wine experts it's not needed which is convenient in this time of COVID-19 pandemic.

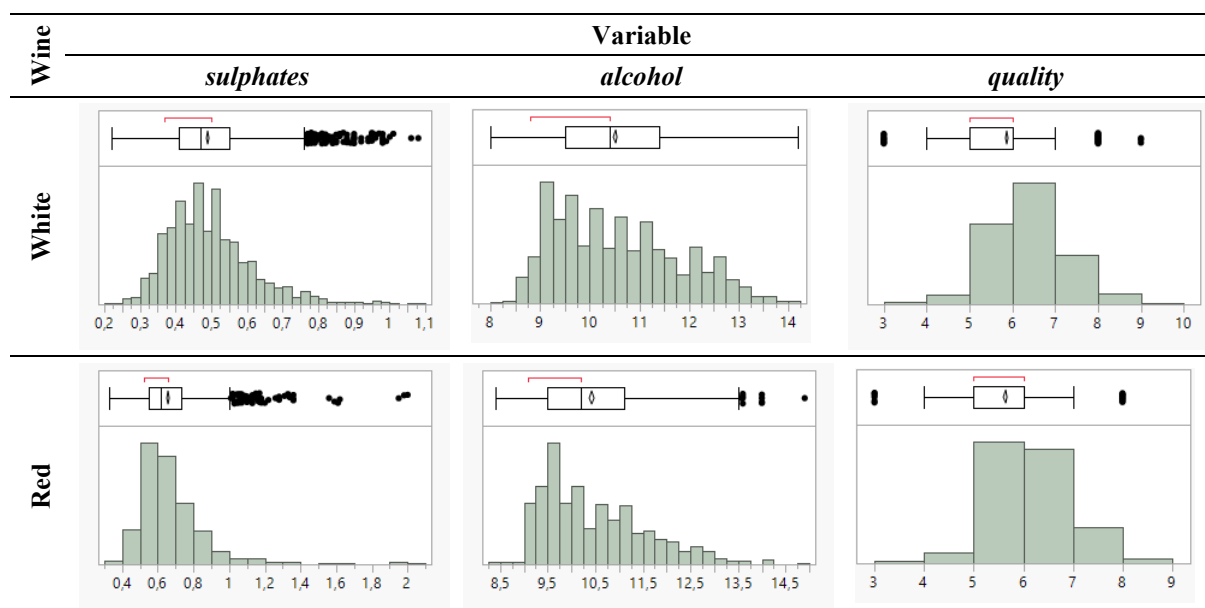
In the previous research (UCI Machine learning Repository, 2009), two valuable data sets were created by using and studying samples of red and white wines. Data sets were created as a result of objective tests, conducted in the laboratory such as PH value and IoT sensors. Output variable is based on subjective research that emerged as a median of at least three assessments given by specific wine experts. Each of the experts rated the quality of the wine with a number from the scale in the range from 0 to 10, where 0 represents - very bad and 10 - excellent.

Research data are related to Vinho Verde which represent range of Portuguese wines that have a very distinctive taste. As their name suggests, it is a "green wine" and it does not mean its color but the exceptional youth and immaturity, the peculiarity of which is the recommended period of consumption within a year from harvest. The wine itself has a very fresh taste that targets many consumers, with an alcohol content of up to 11%. The wine comes from the Minho region in the north of Portugal, and is protected by a designation of origin. The region was originally designed in 1908, and since 2005 the region has been characterized by a multitude of smaller wine growers, numbering over 30,000 members.

Data used in analysis included 6497 tested and assessed wines. There were 4898 instances for white wines and 1599 instances of red wines. There were 11 independent input variables and one dependent output variable. Input variables were based on physicochemical tests whereas output variable was subjective assessment of human wine experts. There are no missing values in data. Distribution of values for each variable is presented in Table 1.

Table 1. Distribution of variables – physicochemical characteristics of wine





## Results and discussion

Since machine learning approaches showed superiority in various domains (e.g. Oreški, Pihir and Konecki, 2017; Oreški, Konecki and Pihir, 2019), artificial neural network (ANN) is used in modelling phase since literature review shown their superiority in this domain. At a technical level, configuration of the ANN consists of defining parameters that allow the realization of optimal predictions, considering number of input and output variables (nodes in ANN). The proposed ANN architecture shown in Figure 1 consists of 11 neurons in input layer, 6 neurons in hidden layer and one neuron (quality) in output layer. Hidden layer communicates with input layer adjusting weights between neurons and thus, developing predictive model.

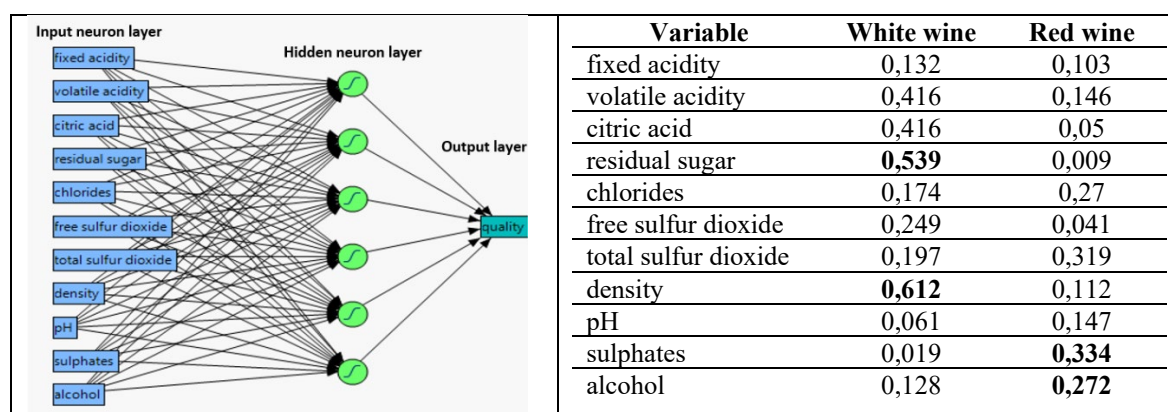


Figure 1. Neural network architecture and effects of input variables

Metrics obtained in the evaluation set with the selected ANN configuration show high accuracy for both models, red and white wine, as well as high reliability. Predictive model for white wine quality achieved accuracy of 85,2 % whereas model for red wine prediction achieved accuracy of 87,4 %. Both models obtained RSquare of 0,76. Table in Figure 1 represents effects of input variables on quality of wine.

To provide a description of the importance of the parameters, a sensitivity analysis has been applied to extract the amount of change in output variable when input variables are varied.

The result is detailed in right side of Figure 1, where the fraction of variance explained for each attribute is represented. It can be seen there that the most influential variables for white wine quality are density and residual sugar, whereas for red wine quality sulphates and alcohol. Although there are significant differences in quality prediction between wines, total sulfur dioxide and volatile acidity are in the middle of list for both cases.

## Conclusion

This work reflects the importance of wine quality examination automatization and digital transformation since pandemic problems can prevent the gathering of quality assessment experts. Thanks to the study carried out with the public dataset it has been known that the factors that have the greatest impact on the wine quality differ significantly between red and white wines.

As research limitation, properties considered in this research could be good starting point in final decision on wine quality or implication for final human organoleptic quality analysis. Some wine experts find these factors only a part of analysis and by that insufficient for final quality assessment.

In the future research we will combine different machine learning and/or multicriteria decision making approaches to develop ensembles with even better performance. Based on such predictive models, knowledge system will be developed which represent another step closer to full automatization of these processes.

## Acknowledgment

This research has been conducted as a part of the wider research in the project Competence Centre for Digital Transformation of the Food Industry in Rural Areas, which is co-funded by European Union through the European Regional Development Fund (ERDF).

## References

- Digital Transformation Monitor. (2017). Smart vineyard: management and decision making support for wine producers. Available from: <https://ati.ec.europa.eu/sites/default/files/2020-06/Smart%20vineyard-%20management%20and%20decision-making%20support%20for%20wine%20producers%20%28v1%29.pdf>
- Feilhauer P. (2013). Prediction of wine quality. Available from: <https://www.yumpu.com/en/document/read/20592556/prediction-of-wine-quality>
- Furjan Tomičić M., Pihir I., Tomičić-Pupek K. (2019). Digital Transformation Playground Operationalization - How to Select Appropriate Technologies for Business Improvement Initiatives. In *PrOse 2019 Practicing Open Enterprise Modeling Within OMiLAB*, 61-71.
- Kutnjak A., Pihir I., Tomičić-Pupek K. (2020). Smart Agriculture and ERP Benefits in the Context of Digital Transformation. In *58th International Scientific Conference on Economic and Social Development: Book of Proceedings*, 21-33. Aveiro, Portugal, VADEA.
- Mangiaracina R., Miragliotta G., Perego A., Salvadori G., Tumino A. (2016). Adopting the Internet of Things technologies in Agriculture: an analysis of the benefits in the organic wine industry. XXI Summer School Francesco Turco" - Industrial Systems Engineering: 48-53.
- Masetti G., Marazzi F., Di Cecilia L., Rovati L. (2018). IOT-Based Measurement System for Wine Industry. 2018 Workshop on Metrology for Industry 4.0 and IoT: 163-168, Brescia.
- Nachev A., Hogan M. (2013). Using data mining techniques to predict product quality from physicochemical data. In *Proceedings on the International Conference on Artificial Intelligence*.
- Oreški D., Konecki M., Pihir I. (2019). Predictive Modelling of Academic Performance by Means of Bayesian Networks. In *47th International Scientific Conference on Economic and Social*

- Development Economic and Social Development: Book of Proceedings*; 435-441. Prague, Czech Republic, VADEA.
- Oreški D., Pihir I., Konecki M. (2017). CRISP-DM process model in educational setting. In *20th International Scientific Conference on Economic and Social Development: Book of Proceedings*, 19-28. Prague, Czech Republic, VADEA.
- Ribeiro J., Neves J., Sanchez J., Delgado M., Machado J., Novais P. (2009). Wine vinification prediction using data mining tools. In *ECC'09 Proceedings of the 3rd international conference on European computing conference*, 78-85.
- Robinson D. (2019). Technology in the wine industry: How IoT is transforming vineyards. NS Agriculture. Available from: <https://www.nsagriculture.com/news/technology-wine-industry-iot-vineyards/>
- Trilles Oliver S., González-Pérez A., Huerta Guijarro J. (2018). An IoT proposal for monitoring vineyards called SEnviro for agriculture. In *Proceedings of the 8th International Conference on the Internet of Things (IOT '18)*, 1-4.
- UCI Machine learning Repository (2009.) Wine Quality Data Set. Available from: <https://archive.ics.uci.edu/ml/datasets/wine+quality>

## Relationship between some sensory attributes and overall impression of Teran wines produced with different vinification techniques

Sara Rossi<sup>1</sup>, Ena Bestulić<sup>1</sup>, Tomislav Plavša<sup>1</sup>, Marijan Bubola<sup>1</sup>, Anita Silvana Ilak Peršurić<sup>1</sup>, Ana-Marija Jagatić Korenika<sup>2</sup>, Sanja Radeka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Agriculture and Tourism, Karla Huguesa 8, 52440 Poreč, Croatia (sarasar@iptpo.hr)

<sup>2</sup> University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Viticulture and Enology, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia

### Abstract

The aim of this study was to establish the relationship between some sensory attributes and the overall impression of native Croatian red wine variety Teran (*Vitis vinifera* L.). Wines were produced with four different vinification techniques: control (7-days maceration, TM7), prolonged maceration 10 and 21 days (TM10, TM21 respectively), and pre-fermentation heating treatment (TPHT). The sensory profile of wine samples was obtained using quantitative descriptive analysis (QDA) and 100 points O.I.V/U.I.O.E. evaluation method. Five panelists rated the intensity of body/fullness, astringency, viscosity, aftertaste quality, and varietal typicality of taste. The results showed a positive correlation between the intensity of most taste attributes and the overall wine impression. A strong negative correlation was observed for astringency. All observed treatments, highlighting post-fermentative prolonged 21-day maceration and pre-fermentation heating treatment, contributed to the positive effect on taste profile and overall wine impression regarding control treatment.

**Keywords:** prolonged maceration, pre-fermentation heating, sensory evaluation, overall impression

### Introduction

Polyphenols are critical factors in red wine composition since they are involved in its sensory properties, aging behavior, and beneficial health effects attributed to moderate wine consumption (Maza *et al.*, 2019). They are mainly extracted from grapes during maceration and are responsible for several important sensory properties of red wine, such as taste, mouthfeel, and color (Gonzalez-Neves *et al.*, 2015; Lukić *et al.*, 2017). Among them, phenolic acids, flavonols, and tannins are responsible for astringency and bitterness (Garrido and Borges, 2013). Maceration conditions, such as duration and temperature, are the most important factors that affect the diffusion of varietal aromas and phenols from solid grape parts and their solubilization into must and wine. Therefore maceration's duration and temperature are defining the polyphenolic profile and sensory properties of the resulting wine (Sacchi *et al.*, 2005; Casassa, 2013; Lukić *et al.*, 2017). During the production of red wines, grape pomace is macerated through the whole or the largest part of fermentation at relatively high temperatures (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). Extended maceration prolongs skin and seed contact after the must has fermented to dryness (Sacchi *et al.*, 2005). This practice has gathered attention because of its potential to enhance phenolic extraction (Rossi *et al.*, 2020) and alter mouthfeel properties (Casassa *et al.*, 2013). Temperature also has a significant role in the extraction of phenolic compounds during maceration (Rossi *et al.*, 2020) as it influences the permeability of the cell membranes in the grape solids (Koyama *et al.*, 2007) and enhances the solubility of phenolic compounds (Setford *et al.*, 2017). For



heat treatments to successfully increase extraction, it is necessary for grape skin to contact the juice during or after heating (Sacchi *et al.*, 2005).

Teran (*Vitis vinifera* L.) is a traditional Croatian grapevine variety, mostly found on the Istrian peninsula. Teran wine is mainly produced by 5-10 days of maceration. Its total polyphenolic content increases significantly with the length of maceration (Plavša *et al.* 2012, Rossi *et al.*, 2020) and pre-fermentation heating (Rossi *et al.*, 2020). Notably, most previous studies on Teran wine using these or similar enological techniques performed limited or no sensory analyses. The aim of this study was to investigate the effect of pre-fermentation heating treatment and prolonged maceration on the presence of desirable sensory taste attributes and how it correlates with overall impression obtained through wine sensory evaluation.

## Materials and methods

The grapes of *cv.* Teran (*Vitis vinifera* L.) were harvested at technological maturity (21.6° Brix, 8.3 g/L of total acidity expressed as tartaric acid, and pH 3.2) in 2018 in Western Istria (Croatia). The experiment was performed in the experimental cellar of the Institute of Agriculture and Tourism in Poreč. Grapes were destemmed and crushed and then homogeneously transferred into stainless steel vats with the addition of 30 g/hL of selected dry yeast Fermol Mediterranee (*Saccharomyces cerevisiae*, AEB). Four different vinification techniques were carried out. Three maceration periods were applied: 7-days (TM7, control treatment), 10-days (TM10), and 21-days post-fermentative prolonged maceration (TM21) at the temperature of 24°C, and 10-days maceration with the heating at 45°C for the first 48 hours (pre-fermentation heating treatment, TPHT). The heating was followed by cooling before yeast inoculation. Each vinification was conducted in three replications. Sensory evaluation of wines took place in the Institute of Agriculture and Tourism in Poreč. It was performed by a panel of five trained, certified tasters, highly experienced in Teran wine sensory evaluation. Tasters were seated in separate purpose-made booths, and the environment was free of interference in terms of noise, visual stimulation, and ambient odor. Wine samples of 200 mL were served in coded standard wine tasting glass (ISO 3591, 1997) at 18°C. For descriptive sensory analysis, the tasters used a 10-point structured scale to rate each attribute's aroma intensity (0 = attribute not perceptible, 10 = attribute strongly perceptible). Wines were also assessed on a regular basis as in commercial wine handling by the 100-point O.I.V. method. Samples were presented in three replications and evaluated in random order. The data were processed using a one-way analysis of variance (ANOVA). Fischer's least significant difference test (LSD) was used to compare mean values ( $p < 0.01$  and  $p < 0.05$ ). Pearson's correlation analysis was used to investigate the relationship between two variables, the presence of specific sensory attributes and the final wine score. Results were presented using Pearson's correlation coefficient ( $r$ ) that ranges in value between -1 to +1 showing the direction and strength of two variables. Statistical analyses of results of one year of research were performed using Statistica 10 software (Stat-Soft Inc. Tulsa, OK).

## Results and discussion

The perception of wine taste sensation results from numerous sensory properties mutually interacting (Gawel *et al.*, 2000). Intensity of some taste attributes such as body/fullness, viscosity, aftertaste quality, and varietal typicality of taste was evaluated for every treatment using QDA. As presented in Figure 1., body/fullness and viscosity were perceived as most intense in TPHT, while control wine (TM7) showed the lowest intensity of those two attributes. Astringency was most noted in TM7 and TM10, and differences were significant from TM21 and TPHT. The varietal typicality of taste was perceived as significantly most intense in TM21 and TPHT treatments, with respect to other two treatments (TM7, TM10).

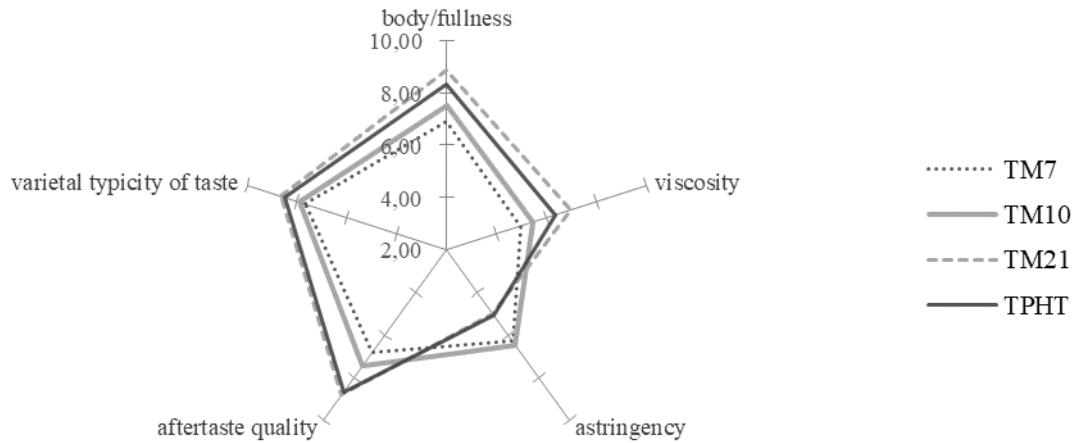
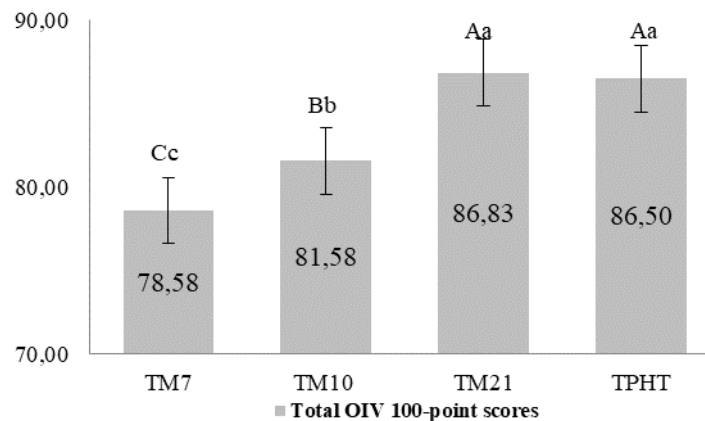


Figure 1. Quantitative descriptive analysis (QDA) results showing the presence of taste attributes between different vinification techniques of Teran wines

As presented in Figure 1. prolonged post-fermentative maceration (TM21) and pre-fermentation heating treatment (TPHT) positively influenced the aftertaste quality of Teran wines, and were significantly higher with respect to other two treatments. It is important to note that these results are following our previous results (Rossi *et al.*, 2020) where prolonged post-fermentative maceration and pre-fermentation heating treatment significantly affected an increase in total phenolic concentration.



Graph 1. Total score mean values  $\pm$  standard deviations,  $n=5$ . Capital letters represent significant differences at  $p<0.01$  and lower case letters at  $p<0.05$  level in accordance with (LSD) test.

All treatments resulted in high total scores obtained through the OIV 100-point method, as presented in Graph 1. Maceration treatment TM21 achieved the best results but was not significantly different from TPHT. Both maceration treatments TM10 and TM7 did differ significantly from other treatments and achieved lower results, respectively.

Table 1. Average values of taste attributes in correlation with the 100-points total score

OIV 100-point scores		
Taste attribute	r	Strenght level
body/fullness	0,9784	very strong
viscosity	0,9650	very strong
astringency	-0,9212	very strong
aftertaste quality	0,9984	very strong
varietal typicity of taste	0,9933	very strong

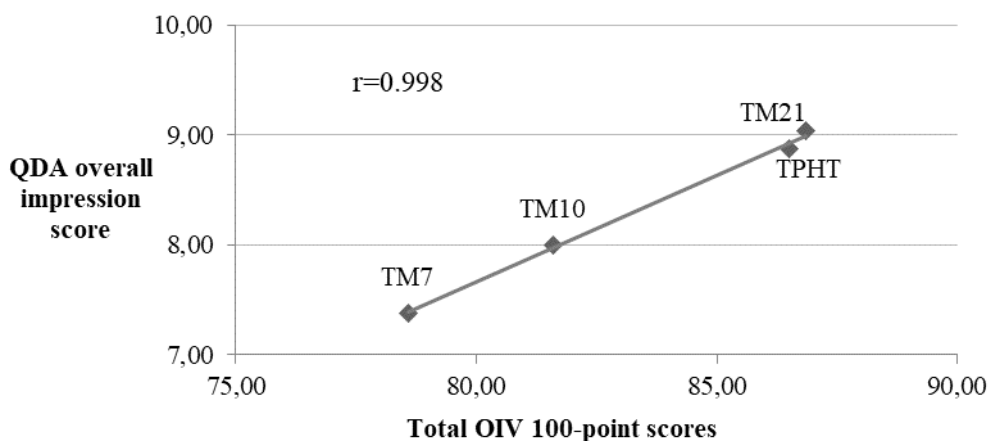


Figure 2. Scatter plot of overall wine impression in correlation with the 100-points total score

The relationship between taste attribute scores and total wine scores of all treatments is shown in Table 1. The results are presented using Pearson's correlation coefficient ( $r$ ) that showed a very strong correlation between observed variables. Body/fullness, viscosity, aftertaste quality, and varietal typicity of taste showed a very strong positive correlation with total scores. In contrast, astringency attribute showed a very strong negative correlation with the total score which positively affected wine quality. The presence of astringency taste attribute is noted more in those treatments valued with lower scores. QDA overall wine impression and total 100-points score also showed a very strong positive correlation (Figure 2.)

## Conclusions

The results showed a positive correlation between the data obtained from the QDA and the 100-point evaluation method. The applied pre-fermentation heating treatment (TPHT) and post-fermentative extended maceration (TM21) alerted the sensory attributes and overall impression of the resulting Teran wines. The highest intensity of body/fullness, viscosity, aftertaste quality, and varietal typicity of taste was reported for TM21 and TPHT treatments. All treatments resulted in high total scores obtained through the OIV 100-point method. Post-fermentative prolonged maceration treatment (TM21) achieved the best results but was not significantly different from pre-fermentative heating treatment (TPHT). These results suggest that post-fermentative prolonged maceration and pre-fermentation heating treatment in Teran wine production increases the polyphenolic concentration and consistently affects sensory attributes, and the overall impression of the wine while enhancing wine health benefits.

## Acknowledgments

This work has been supported by the Croatian Science Foundation under the project „Influence of different vinification technologies on the qualitative characteristics of wines from Croatian autochthonous varieties: the role of wine in human diet“- VINUM SANUM (IP-2018-01-5049); 2018-2022.

## References

- Casassa L. F., Beaver C. W., Mireles M. S., Harbertson J. F. (2013). Effect of extended maceration and ethanol concentration on the extraction and evolution of phenolics, colour components and sensory attributes of Merlot wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 19:25–39.
- Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts (2 vol.).
- Garrido J., Borges F. (2013). Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. *Food Research International*. 54:1844–1858.
- Gawel R., Oberholster A., Francis I. L. (2000). A ‘Mouth-feel Wheel’: terminology for communicating the mouth-feel characteristics of red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 6:203–207.
- Gonzalez-Neves G., Favre G., Gil G., Ferrer M., Charamelo D. (2015). Effect of cold pre-fermentative maceration on the color and composition of young red wines cv. Tannat. *Journal of Food Science and Technology –Mysore*. 52:3449–3457.
- Herjavec S., Jeromel A., Maslov L., Jagatić Korenika AM., Mihaljević M., Prusina T. (2012). Influence of Different Maceration Times on the Anthocyanin Composition and Sensory Properties of Blatina Wines. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 77:41–44.
- ISO. Sensory analysis. Apparatus wine-tasting glass. ISO 3591-1997, Group B (1997.)
- Koyama K., Goto-Yamamoto N., Hashizume K. (2007). Influence of Maceration Temperature in Red Wine Vinification on Extraction of Phenolics from Berry Skins and Seeds of Grape (<I>Vitis vinifera</I>). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 71:958–965.
- Lukić I., Budić-Leto I., Bubola M., Damijanić K., Staver M. (2017). Pre-fermentative cold maceration, saignée, and various thermal treatments as options for modulating volatile aroma and phenol profiles of red wine. *Food Chemistry* 224:251–261.
- Maza M., Álvarez I., Raso J. (2019). Thermal and Non-Thermal Physical Methods for Improving Polyphenol Extraction in Red Winemaking. *Beverages* 5:47.
- Plavša T., Jurinjak N., Antunović D., Peršurić Đ., Kovačević Ganić K. (2012). The Influence of Skin Maceration Time on the Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Red Wine Teran (*Vitis vinifera* L.). *Food Technology and Biotechnology*. 50:152–158.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006). *Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine - Stabilization and Treatments*. John Wiley & Sons.
- Rossi S., Radeka S., Bubola M., Plavša T., Horvat I., Lukić I., Jagatić Korenika A-M. (2020). Influence of different vinification techniques on stilbenes and total polyphenolic content in Teran wines. SA 2020, 55th Croatian and 15th International Symposium on Agriculture, Proceedings: 496.
- Sacchi K.L., Bisson L.F., Adams D.O. (2005). A Review of the Effect of Winemaking Techniques on Phenolic Extraction in Red Wines. 10.
- Setford P.C., Jeffery D.W., Grbin P.R., Muhlack R.A. (2017). Factors affecting extraction and evolution of phenolic compounds during red wine maceration and the role of process modelling. *Trends in Food Science & Technology*. 69:106–117.

## **Povezanost između pojedinih senzornih atributa i ukupnog dojma vina sorte 'Teran' proizvedenog različitim vinifikacijskim tehnologijama**

### **Sažetak**

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi odnos između pojedinih senzornih atributa i ukupnog dojma vina hrvatske autohtone sorte 'Teran' (*Vitis vinifera* L.). Provedene su četiri različite vinifikacijske tehnologije: kontrola (7 dana maceracije), produljena maceracija u trajanju od 10 i 21 dan i pred-fermentacijski tretman zagrijavanja masulja. Za utvrđivanje senzornog profila vina provedena je kvantitativno deskriptivna analiza i O.I.V/U.I.O.E. metoda 100 bodova. Senzornu analizu provelo je pet ocjenjivača koji su ocijenili intenzitet tijela/punoće vina, astringentnosti, viskoziteta, kvalitete aftertaste-a i sortnu tipičnost okusa. Dobiveni rezultati ukazuju na pozitivnu korelaciju između intenziteta pojedinih senzornih atributa okusa, dok je negativna korelacija uočena kod svojstva astringencije. Tretmani produljene post-fermentacijske maceracije i pred-fermentacijskog zagrijavanja masulja imali su pozitivan utjecaj na senzorni profil i ukupni dojam vina u odnosu na kontrolni tretman.

**Ključne riječi:** produljena maceracija, pred-fermentacijsko zagrijavanje, senzorna analiza, ukupni dojam vina

## Učinak ultrazvučnog tretmana na sadržaj $\beta$ - karotena u soku klementine

Jana Šic Žlabur<sup>1</sup>, Ante Galić<sup>1\*</sup>, Marija Dragobratović<sup>2</sup>, Martina Skendrović Babojelić<sup>1</sup>, Sandra Voća<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska (agalic@agr.hr)*

<sup>2</sup>*Studentica Preddiplomskog studija, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska*

### Sažetak

Razvojem prehrambene tehnologije sve više se počinju implementirati moderni postupci i tretmani procesiranja proizvoda. Naime, moderne tehnike, poput ultrazvučno potpomognutog tretmana pripadaju u neinvazivne metode, čija se glavna prednost očituje u skraćivanju trajanja procesa i očuvanju nutritivne kvalitete gotovog proizvoda. Stoga je cilj ovog rada bio utvrditi utjecaj ultrazvučnog tretmana, kao i različitog vremenskog perioda obrade ultrazvukom na sadržaj  $\beta$ -karotena u soku klementine. Ultrazvučni tretman značajno je pozitivno utjecao na sadržaj  $\beta$ -karotena prilikom čega je čak 81 % veći sadržaj utvrđen u ultrazvučno tretiranim uzorcima sokova klementine u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Od istraživanih vremenskih perioda obrade, ultrazvučnim tretmanom od 15 minuta dobivene su najveće vrijednosti  $\beta$ -karotena.

**Ključne riječi:** vrijeme obrade, ultrazvuk visokog intenziteta, klementina, karotenoidi, ultrazvučna kupelj

### Uvod

Konzumacija agruma uglavnom je sezonski ograničena, a plodovi različitih vrsta agruma vrlo su cijenjeno i traženo voće prvenstveno u svježem stanju, no isto tako popularni su i u proizvodnji raznih prerađevina, a među kojima se posebno ističu osvježavajući napitci. Plodovi agruma nutritivno su vrijedne sirovine, a zbog povoljnog kemijskog sastava i visokog sadržaja brojnih bioaktivnih spojeva imaju značajnu dijetoterapeutsku i funkcionalnu vrijednost, a zbog čega su izrazito značajni za ljudsko zdravlje (Gugić i Cukrov, 2011.). Jedni od najdominantijih nutritivnih spojeva agruma su i karotenoidi, pigmenti odgovorni za karakteristično žućkasto do narančasto obojenje kore i pulpe citrusa, a koji uvelike doprinose brojnim funkcionalnim vrijednostima voćnih vrsta iz skupine agruma (Pons i sur., 2013.; Fabroni i sur., 2016-). Iz grupe karotenoida, ističe se kao glavni i često najzastupljeniji pigment u sastavu ploda citrusa upravo  $\beta$ -karoten (Tadeo i sur., 2020.). Ultrazvučni tretmani u prehrambenoj tehnologiji postaju sve upotrebljavaniji zbog niza prednosti koje pokazuju tijekom primjene, i to od smanjenja ukupnog vremena procesiranja do značajne uštede energije tijekom procesa. Također, djelovanjem ultrazvuka visokog intenziteta moguće je utjecati na očuvanje nutritivne vrijednosti sirovine u gotovom proizvodu kao i poboljšanje senzorskih svojstva proizvoda (Brnčić i Šic Žlabur, 2019.). Primarni mehanizam djelovanja ultrazvuka visokog intenziteta u obradi hrane je fenomen prijelazne kavitacije. Prolaskom zvučnog vala (longitudinalnog) kroz tekući medij, stvaraju se izmjenični pritisak i ekspanzijski vrtlozi tlaka, a prilikom čega se razvija negativan tlak.

Kada je tlak dovoljno nizak da svlada intramolekularne sile dolazi do formiranja mjehurića plina. Prolaskom ultrazvučnog vala, visokog intenziteta, odnosno visoke snage kroz tekući medij, veličina mjehurića oscilira. Dodirna površina mjehurića se povećava uzastopnim ekspanzijama i kompresijama te se, posljedično tome, veličina mjehurića mijenja (skuplja i širi) tijekom svakog ciklusa. Rezultat brojnih ciklusa kompresije i ekspanzije su mjehurići kritične veličine koji će implodirati ili ekspodirati, a molekule oko njih snažno se sudarati jedna s drugom. Tako nastaju mikropodručja s ekstremno visokim temperaturama i visokim tlakom, koja posljedično izazivaju fizikalne i kemijske promjene materijala koji se tretira. U upotrebi je poznato nekoliko stotina različitih ultrazvučnih sustava, no u području prehrambene tehnologije najznačajnije su ultrazvučna kupelj i sustav ultrazvučne sonde (Knorr i sur., 2004.).

Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj ultrazvučnog tretmana kao i različitog vremenskog perioda obrade ultrazvukom na sadržaj  $\beta$ -karotena u soku klementine.

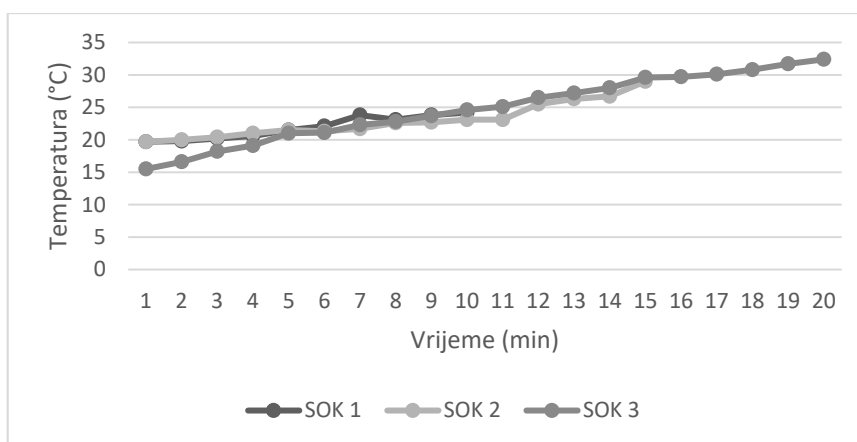
### Materijal i metode

Kao biljni materijal korišteni su plodovi vrste klementina (*Citrus clementina*) sorte 'SRA 64' ubrane iz obiteljskog nasada na području Lovorja (Opuzen) početkom 2020. godine. Ukupna masa plodova klementina prikupljenih za potrebe pokusa iznosila je 2521,4 g. Odmah nakon ubiranja plodovi su dopremljeni na Zavod za poljoprivrednu tehnologiju, skladištenje i transport Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu gdje su provedene sve daljnje analize. Za potrebe pripreme soka, plodovi su oguljeni, a iz očišćenog endokarpa ploda u centrifugalnom sokovniku („Bullet Express“, Kina) iscijeđen je sok. Ukupni volumen dobivenog soka klementine postupkom cijedenja iznosio je 1300 mL. Također, sadržaj  $\beta$ -karotena osim u soku, analiziran je i u endokarpu ploda prije izdvajanja soka i u organskom ostatku koji je preostao nakon odvajanja soka.

Za potrebe ultrazvučne obrade, pripremljen sok klementine odvojen je u četiri laboratorijske čase volumena od 100 mL. Tri uzorka soka pripremljena su za ultrazvučnu obradu, dok je jedan odvojen kao kontrolni uzorak (SOK 0). Ultrazvučni tretman sokova proveden je u ultrazvučnoj kupelji „Bandelin” RK 103H (Njemačka) frekvencije 35 kHz i snage 100 W prilikom čega je varirano vrijeme tretiranja uzoraka sokova: 10 (SOK 1), 15 (SOK 2) i 20 minuta (SOK 3). Također, za svaki uzorak soka tretiran ultrazvukom praćena je promjena temperature uzoraka termometrom svakih 60 s (Grafikon 1). Najviša temperatura (32,4 °C) zabilježena je kod ultrazvučnog tretmana soka u periodu od 20 minuta (SOK 3), dok su niže temperature, 29,6 °C i 24,6 °C zabilježene kod kraćih tretmana, odnosno pri variranih 15 i 10 minuta.

Laboratorijska analiza sadržaja  $\beta$ -karotena provedena je metodom opisanom prema Ough i Amerine (1988). Konačna koncentracija očitana je spektrofotometrijski (UV 1650 PC, Shimadzu, Japan) pri 450 nm uz petroleter (40-70 °C) kao slijepu probu. Rezultati sadržaja  $\beta$ -karotena preračunati su i izraženi kao  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  svježeg tvari.

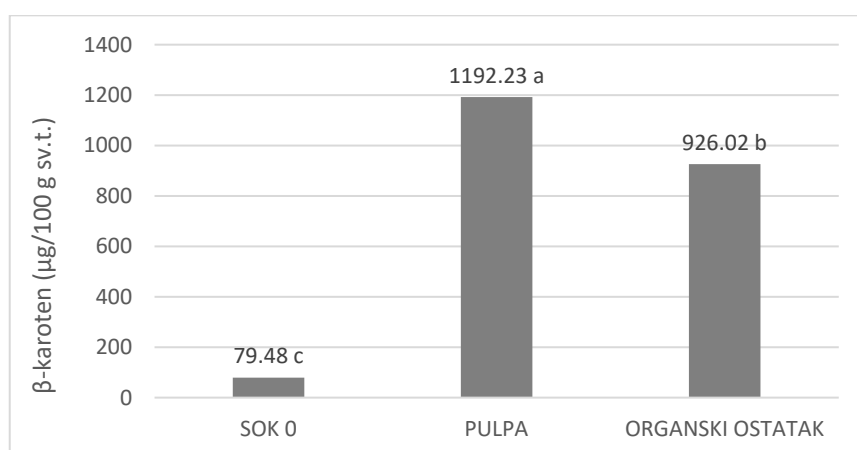
Dobiveni podaci obrađeni su statistički u programu SAS, verzija 9.3 (SAS, 2010). Korišten je Duncanov test signifikantnosti razlika (1 %).



Grafikon 1. Promjena temperature tijekom ultrazvučnog tretmana uzoraka sokova klementine

## Rezultati i rasprava

Rezultati sadržaja  $\beta$ -karotena u analiziranim uzorcima prikazani su u Grafikonima 2 i 3. Naime, prilikom pripreme soka postupkom cijedenja, preostaje značajan dio definiran kao organski ostatak, a koji se uglavnom prilikom prerade definira kao otpad i baca. Preostali organski ostatak dobar je izvor brojnih fitokemikalija i bioaktivnih spojeva, uključujući i karotenoide, te je njegovo daljnje iskorištenje moguće, kao na primjer nusproizvoda za potrebe prehrambene, farmaceutske ili kozmetičke industrije (El-Sharnouby i sur., 2013.; Boukroufa i sur., 2017.). Prema dobivenim rezultatima analize pojedinih dijelova svježeg ploda klementine (Grafikon 1) najveći sadržaj  $\beta$ -karotena utvrđen je pulpi odnosno endokarpu ploda (1192,23  $\mu\text{g}/100$  g svježe tvari), zatim u organskom ostatku preostalom nakon odvajanja soka (926,02  $\mu\text{g}/100$  g svježe tvari), dok je najmanji sadržaj (79,48  $\mu\text{g}/100$  g svježe tvari) utvrđen u odvojenom soku (SOK 0). Prema dobivenim rezultatima može se potvrditi kako je organski ostatak značajan izvor  $\beta$ -karotena te je njegovo daljnje iskorištenje značajno, posebice za potrebe izolacije i daljnjih mogućnosti implemetacije navedenog spoja.

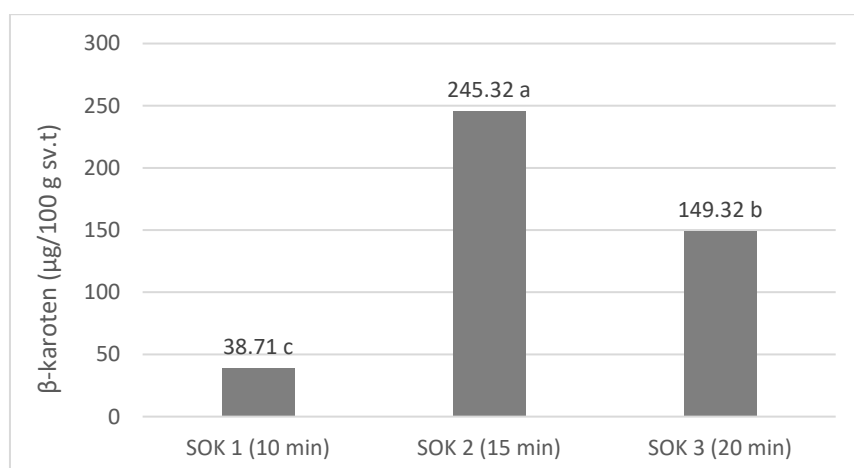


Grafikon 2. Sadržaj  $\beta$ -karotena ( $\mu\text{g}/100$  g svježe tvari) u pojedinim dijelovima svježeg ploda klementine

Sadržaj  $\beta$ -karotena praćen je i u uzorcima sokova tretiranih ultrazvukom pri različitim vremenskim periodima (Grafikon 3). Uspoređujući kontrolni uzorak soka (SOK 0) i uzorke tretirane ultrazvukom visokog intenziteta može se utvrditi značajno viši sadržaj  $\beta$ -karotena u ultrazvučno tretiranim uzorcima uz izuzetak SOKA 1 (tretman u periodu 10 min), a u



kojem je utvrđen niži sadržaj u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Općenito, neovisno o vremenskom periodu tretiranja, čak 81% viša vrijednost  $\beta$ -karotena utvrđena je u ultrazvučno tretiranim sokovima u usporedbi s uzorkom bez tretmana. Vremenski period tretiranja značajno je utjecao na sadržaj  $\beta$ -karotena, a što je i očekivano s obzirom da je vrijeme tretiranja jedan od ključnih čimbenika procesa prijelazne kavitacije, glavnog mehanizma djelovanja ultrazvuka visokog intenziteta (Herceg, 2008). S obzirom na varirani vremenski period, najviši sadržaj  $\beta$ -karotena (245,32  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  svježe tvari) utvrđen je u uzorku tretiranom ultrazvukom u trajanju od 15 min (SOK 2), dok najniži (149,32  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  svježe tvari) u uzorku tretiranom 10 min (SOK 1). Naime, i druga istraživanja dokazuju izuzetnu učinkovitost ultrazvuka u izolaciji, ali i očuvanju sadržaja pojedinih bioktivnih spojeva pa tako i karotenoida, odnosno  $\beta$ -karotena (Brnčić i Šic Žlabur, 2019) kao što je to potvrđeno i rezultatima ovog istraživanja.  $\beta$ -karoten, kao i ostali spojevi iz skupine karotenoida, pokazuju relativnu nestabilnost s obzirom na čimbenike tijekom prerade sirovine, ponajviše visoku temperaturu i utjecaj kisika (Pénicaud i sur., 2011) te su stoga u upotrebi poželjne tehnike koje podrazumijevaju minimalni degradirajući učinak na sirovinu, kao što je to ultrazvučni tretman. Tijekom ultrazvučnog tretmana sokova praćena je i temperatura uzoraka (Grafikon 1.) prilikom čega je najniža temperatura sustava (24,6 °C) utvrđena kod tretmana u trajanju od 10 min, dok najviša (32,4 °C) u uzorku tretiranom 20 min. Naime, u uzorku SOK 2 (15 min) utvrđen je čak 64% viši sadržaj  $\beta$ -karotena u odnosu na SOK 3 (20 min), a što može biti posljedica porasta temeprature sustava tijekom ultrazvučnog tretiranja (Grafikon 1.).



Grafikon 3. Sadržaj  $\beta$ -karotena ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$  svježe tvari) u ultrazvučno tretiranim

### Zaključak

Iz dobivenih rezultata može se zaključiti kako je sadržaj  $\beta$ -karotena najviši u endokarpu (pulpi) ploda klementine, dok istovremeno značajnu vrijednost sadrži i organski ostatak nakon odvajanja soka. Također, tretman ultrazvukom značajno je pozitivno utjecao na sadržaj  $\beta$ -karotena, prilikom čega su značajno više vrijednosti utvrđene u ultrazvučno tretiranim sokovima. Vrijeme tretiranja važan je čimbenik ultrazvučnog tretmana, te su se vrijednosti sadržaja  $\beta$ -karotena značajno razlikovale ovisno o periodu tretiranja. Ultrazvučnim tretmanom sokova u trajanju od 15 minuta utvrđene su najviše vrijednosti sadržaja  $\beta$ -karotena. Obrada hrane ultrazvučnim tretmanima postaje sve dostupnija pa tako i zastupljenija u prehrambenoj tehnologiji prvenstveno zbog brojnih prednosti koje pokazuje, od znatnog skraćivanja trajanja samog procesa, uštede energije do očuvanja nutritivne vrijednosti gotovog proizvoda.

## Literatura

- Boukroufa M., Boutekedjiret C., Chemat F. (2017). Development of a green procedure of citrus fruits waste processing to recover carotenoids. *Resource-Efficient Technologies*. 3(3): 252-262.
- Brnčić M., Šic Žlabur J. (2019). Impact of Ultrasound on Food Constituents. In *Effect of Emerging Processing Methods on the Food Quality: Advantages and Challenges*, Roohinejad S., Koubaa M., Greiner R., Mallikarjunan K. (ed.), 69-94. Springer, Cham, Switzerland.
- El-Sharnouby G. A., Aleid S. M., Al-Otaibi M. M. (2013). Conversion of Processed Citrus Wastes into Nutritional Components. *Journal of Food Processing & Technology*. 4(8): 2-5.
- Fabroni S., Romeo F.V., Rapisarda P. (2016). Nutritional Composition of Clementine (*Citrus x clementina*) Cultivars. In *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*, Simmonds M.S.J. and Preedy V. R. (ed.), 149-172. Academic Press, <https://doi.org/10.1016/C2012-0-06575-1>
- Gugić J., Cukrov L. (2011). Pregled stanja i perspektiva razvoja hrvatskoga agrumarstva. *Pomologia Croatica*. 17 (3-4): 115-134.
- Herceg Z., Režek Jambrak A., Rimac Brnčić S., Krešić, G. (2009). Procesi konzerviranja hrane-Novi postupci, 53-68, Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb.
- Knorr D., Zenker M., Heinz V., Lee D-U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science and Technology*. 15: 261-266.
- Pénicaud C., Achir N., Dhuique-Mayer C., Dormier M., Bohuon P. (2011). Degradation of  $\beta$ -carotene during fruit and vegetable processing or storage: reaction mechanisms and kinetic aspects: a review. *Fruits*. 6(6): 417-440.
- Pons E., Alquézar B., Rodríguez A., Martorell P., Genovés S., Ramón D., Rodrigo M.J., Zacarías L., Peña L.(2014). Metabolic engineering of  $\beta$ -carotene in orange fruit increases its in vivo antioxidant properties. *Plant Biotechnology Journal*. 12(1):17-27.
- SAS/STAT (2010). Verzija 9.3; SAS Institute. Cary, NC, SAD.
- Tadeo F. R., Terol J., Rodrigo M. J., Licciardello C., Sadka A. (2020). Fruit growth and development. In *The Genus Citrus*, Talon M., Caruso M., Gmitter F.G. (ed.), 245-269. Woodhead Publishing, <https://doi.org/10.1016/C2016-0-02375-6>.

## Effect of ultrasound treatment on $\beta$ -carotene content in clementine juice

### Abstract

With the development of food technology, modern processes and product processing treatments are increasingly used. Modern techniques, such as ultrasound-assisted treatment, are in fact among the non-invasive methods, whose main advantage is the reduction of the process time and the preservation of the nutritional quality of the final product. Therefore, the aim of this study was to determine the influence of ultrasound treatment as well as different periods of ultrasound treatment on the content of  $\beta$ -carotene in clementine juice. The ultrasound treatment had a significant positive influence on the content of  $\beta$ -carotene. In comparison to the control sample, an up to 81% higher content was found in ultrasound-treated samples of clementine juices. Of the processing periods investigated, the highest values of  $\beta$ -carotene were obtained by an ultrasound treatment of 15 minutes.

**Key words:** processing time, high intensity ultrasound, clementine, carotenoids, ultrasonic bath

## Anketno istraživanje o utjecaju virusa COVID-19 na konzumaciju plodova voća

Ivica Šnajder<sup>1</sup>, Dinko Zima<sup>1</sup>, Mario Jakobović<sup>1</sup>, Anamaria Soldo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Veleučilište u Požegi, Vukovarska 17, Požega, Hrvatska (isnajdervvup.hr)

<sup>2</sup>Veleučilište u Požegi, Vukovarska 17, Požega, Hrvatska, studentica

### Sažetak

Konzumacija voća doživjela je ogroman porast u proteklom desetljeću obzirom da rezultati brojnih istraživanja ukazuju na pozitivan učinak sastojaka voća na zdravlje čovjeka. Širenje novog korona virusa, SARS-CoV-2 i bolesti COVID-19 uzrokuje neviđen učinak na sva tržišta hrane, uključujući tržište voća i povrća. Cilj istraživanja bio je utvrditi da li pandemija virusom COVID-19 ima utjecaj na konzumaciju plodova voća. Istraživanje je provedeno putem Google obrasca unutar kojeg je provedena anketa koja je potom objavljena na društvenoj mreži Facebook. Dobiveno je ukupno 463 odgovora. Na pitanje da li smatraju da konzumacija voća utječe na stanje imunološkog sustava 97,2 % ispitanika je odgovorilo potvrdno, što dovoljno govori o dovoljno educiranosti i važnosti konzumacije voća. Prema provedenoj anketi 85,1 % ispitanika smatra da situacija uzrokovana virusom COVID -19 nije otežala nabavu svježeg voća. 86,4% ispitanika smatra da im se nisu promijenile prehranbene navike vezane za konzumaciju voća za vrijeme pandemije uzrokovane virusom COVID- 19.

**Ključne riječi:** konzumacija voća, pandemija, COVID-19

### Uvod

Voće je bogato ugljikohidratima raznovrsne strukture, počevši od jednostavnih šećera kao što su glukoza i fruktoza pa do kompleksnih ugljikohidrata: celuloze, hemiceluloze, inulina i drugih. Iz više razloga voće se preporučuje u prehrani a u tom pogledu značajnu ulogu imaju sastojci voća kao što su sirova biljna vlakna: celuloza, hemiceluloza, škrob, pektini, gume, sluzi ali i tvari koje imaju antioksidansni karakter (Jašić, 2010.). Konzumacija voća doživjela je ogroman porast u proteklom desetljeću s obzirom da rezultati brojnih istraživanja ukazuju na pozitivan učinak sastojaka voća na zdravlje čovjeka (Balić, 2013.). S obzirom na nastalu situaciju uzrokovanu pandemijom teškim akutnim respiratornim sindrom korona virus 2, SARS-CoV-2 (skr. COVID-19), osim držanja fizičke distance, nošenja maske, održavanja higijene, jedna od preporuka je također i konzumacija što više svježih neprocesuirane hrane, bogate mineralima i vitaminima. Prema dostupnim informacijama, infekcija novim virusom COVID-19 najčešće uzrokuje simptome poput povišene temperature, suhog kašlja i umora, dok se rjeđe javljaju bolovi u tijelu, začepljen nos i grlobolja. U jedne od pet oboljelih osoba može doći do otežanog disanja i razvoja upale pluća, a u rjeđim slučajevima i do smrti. Čini se kako su starije osobe i osobe s kroničnim bolestima (npr. bolesti srca i dijabetes) podložnije težim oblicima bolest. Ipak, valja naglasiti kako i druge osobe mogu teže oboljeti od COVID-19 infekcije. Određeni broj zaraženih osoba ne pokazuju nikakve simptome bolesti (tzv. asimptomatski slučajevi). Širenje novog korona virusa, SARS-CoV-2 i bolesti COVID-19 uzrokuje neviđen učinak na sva tržišta hrane, uključujući tržište voća i povrća. Kroz lanac vrijednosti, proizvođači i dobavljači navikli su na pravovremene sustave upravljanja zalihama, a trgovci koji su mogli skladištiti svaki proizvod s minimalnim prekidima suočeni su s šokovima i ponude i potražnje. U kratkom roku, zatvaranje restorana i škola - skoro potpun gubitak čitavog kanala distribucije

- imalo je najdramatičniji utjecaj. Razumno je pretpostaviti da se ukupna potrošnja hrane ne mijenja, jer će količine izgubljene na dosadašnjim kanalima za prodaju u prehrambene proizvode promijeniti u kanalima putem interneta (Richards i Rickard, 2020.).

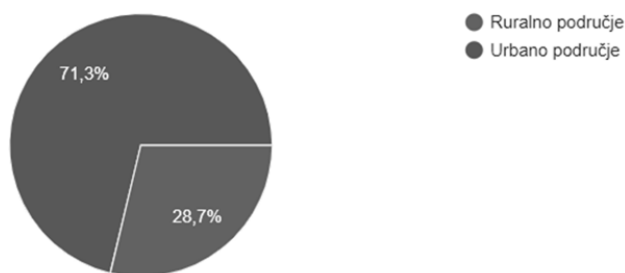
Potencijalni dugoročni trend koji se može pojaviti iz pandemije COVID-19 je način na koji potrošači kupuju hranu i kako kupuju voće i povrće. Prelazak na internetsku kupovinu namirnica posebno je zapažen s obzirom na udio kupovine putem interneta od strane umirovljenika i kućanstava koja tradicionalno nisu kupovala namirnice od kuće (Charlebois, 2020.). Stoga je za to vrijeme važno voditi brigu o prehrambenim navikama, slijedeći zdrav i uravnotežen prehrambeni obrazac koji sadrži veliku količinu minerala, antioksidansa i vitamina. Thurnam, 1997 navodi da je nekoliko studija izvijestilo da voće i povrće koje može pojačati imunološku funkciju jer sadrže neke od mikronutrijenata poput vitamina E, vitamina C i beta-karotena koji su antioksidansi. Pokazalo se da je nedostatak vitamina D zimi povezan s virusnim epidemijama. Kako je vrijeme provedeno na otvorenom, a samim tim i izloženost suncu, ograničeno, preporučljivo je dobiti više vitamina D iz prehrane (Muscogiuri i sur., 2017.). Cilj istraživanja bio je utvrditi da li pandemija virusom COVID-19 ima utjecaj na konzumaciju plodova voća.

### **Materijal i metode**

Istraživanje je provedeno putem Google obrasca unutar kojeg je provedena anketa koja je potom objavljena na društvenoj mreži Facebook. Uzorak koji je anketiran su osobe koje koriste Facebook. Dobiveno je ukupno 463 odgovora. Ispitanici su različitih dobnih skupina. Postavljena je najniža dobnja razina od 15 godina te su sve osobe iznad 50 godina uvrštene zajedno. Anketa je izvođena u razdoblju od 3. 7. 2020. do 20. 7. 2020. Za vrijeme izvođenja ankete u Republici Hrvatskoj je broj zaraženih od virusa COVID-19 svakodnevno rastao te je 3. 7. taj broj bio 3081, od toga 92 nova slučaja, dok je 20. 7. broj narastao na 4406, od čega 38 novih slučajeva ([www.koronavirus.hr](http://www.koronavirus.hr)). Provedena anketa je sadržavala 19 pitanja. Na većinu je bilo obavezno odgovoriti te su odgovori uglavnom višestruki. Pitanja su podijeljena u 4 skupine: Na početku se pitanja osobne prirode (dob, spol, završeni stupanj obrazovanja, mjesto prebivališta), a potom slijede pitanja koja se odnose na stavove o virusu COVID-19 (Smatrate li da mediji prikazuju stvarnu sliku situacije uzrokovane virusom COVID-19?, Strahujete li od zaraze virusom COVID-19? Spadate li u rizičnu skupinu? Smatrate li da se od virusa COVID-19 možemo obraniti alternativnom medicinom?). Od 10. do 15. pitanja su pitanja o voću u prehrani (Koliko često jedete voće?, Smatrate li da jedete voće dovoljno često?, Gdje nabavljate voće?, Koje voće najčešće jedete?, Smatrate li da konzumacija voća utječe na stanje imunološkog sustava?). Na kraju su pitanja vezana za konzumaciju voća u vrijeme virusa COVID-19 (Je li vam situacija uzrokovana virusom COVID-19 otežala nabavu svježeg voća?, Jesu li se promijenile vaše prehrambene navike vezane uz konzumaciju voća za vrijeme pandemije virusa COVID-19?, Smatrate li da se redovitom konzumacijom kvalitetnog voća može ojačati imunitet te se na taj način obraniti od virusa COVID-19?).

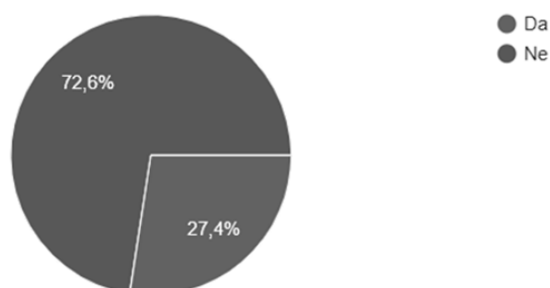
### **Rezultati i rasprava**

Najveći broj ispitanika (73,2 %) imao je između 20 i 30 godina, 9,9 % je imalo između 30 i 40 godina, a 6,7 % između 40 i 50 godina. Od ukupnog broja ispitanika 87,7 % je bilo žena, a samo 12,3 % muškaraca. Obzirom na završeni stupanj obrazovanja 48,2 % ispitanika je imalo završenu visoku ili višu školu, a 41 % srednju. Obzirom na prebivalište 330 ispitanika (71,3 %) živi u urbanom području, a 133 (28,7 %) u ruralnom (Grafikon 1.).



Grafikon 1. Mjesto prebivališta ispitanika

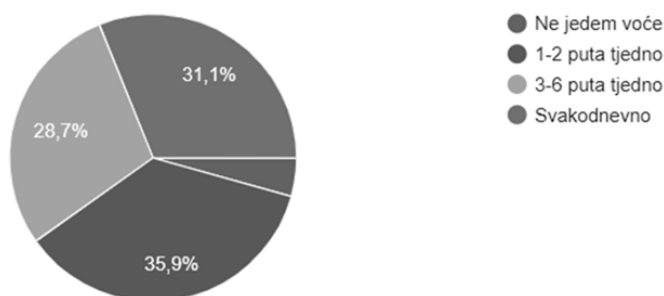
Većina ispitanika (68,3 %) misli da mediji ne prikazuju stvarnu sliku situacije uzrokovane virusom COVID-19-. Na pitanje Strahujete li od zaraze virusom COVID-19 72,6 % je odgovorilo negativno dok je 27,4 % odgovorilo da strahuje od zaraze.(grafikon 2.)



Grafikon 2. Strah od zaraze virusom Covid-19 među ispitanicima

Zanimljivo je napomenuti da ispitanici većinom ne vjeruju alternativnoj medicini jer su na pitanje Smatraju li da se od virusa COVID-19 mogu obraniti alternativnom medicinom 58,3 % odgovorilo negativno, dok 41,7 % smatra da se može obraniti i alternativnom medicinom.

Prema anketi ispitanici redovito konzumiraju voće jer ih je 35,9 % odgovorilo da ga konzumira 1-2 puta tjedno, 31,1 % svakodnevno te 28,7% 3-6 puta tjedno (grafikon 3.). Bez obzira na veliku konzumaciju voća 54,2 % ispitanika smatra da ga ne jede dovoljno često, a 45,8 % smatra da ga jede dovoljno. Kao razlog da ga ne jedu dovoljno 74 % navodi loše prehrambene navike.



Grafikon 3. Učestalost konzumacije voća

Na pitanje gdje nabavljate voće 47 % ispitanika je odgovorilo da ga nabavlja u trgovačkim centrima, 21 % na tržnicama, a 22 % iz domaće proizvodnje. Ispitanici najviše (njih 35 %) konzumira banane, a gotovo jednaku zastupljenost nakon banana čine jabuke, trešnje, lubenice, jagode i sezonsko voće.

Na pitanje da li smatraju da konzumacija voća utječe na stanje imunološkog sustava 97,2 % ispitanika je odgovorilo potvrdno, što dovoljno govori o dovoljno educiranosti i važnosti konzumacije voća. Prema provedenoj anketi 85,1 % ispitanika smatra da situacija uzrokovana virusom COVID-19 nije otežala nabavu svježeg voća, dok 13,6 % smatra da ipak jest. Sukladno ovom 86,4 % ispitanika smatra da im se nisu promijenile prehrabene navike vezane za konzumaciju voća za vrijeme pandemije uzrokovane virusom COVID-19 (Grafikon 4.).



Grafikon 4. Promjene prehrabnenih navika vezanih uz konzumaciju voća za vrijeme pandemije virusom Covid -19

Zanimljivo je da od 12,5 % onih koji smatraju da su im se prehrabene navike promijenile, 58% ispitanika smatra da jede više voća, a 26,1 % da jede manje u odnosu na vrijeme prije pandemije. To upućuje na činjenicu da su ispitanici svjesni važnosti konzumacije plodova voća koje ima benefite u doba povećanih sklonosti zarazi virusom. To dokazuje i činjenica da 60,0 % ispitanika smatra da se redovitom konzumacijom kvalitetnog voća može ojačati imunitet te se na taj način obraniti od virusa COVID-19 (Grafikon 5.).



Grafikon 5. Stav ispitanika o obrani od virusa Covid-19 uz pomoć voća

## Zaključak

Ova je godina svakako ostala obilježena pandemijom virusa COVID-19 koji je poharao cijeli planet, odnio dosta života te velik broj država bacio u gospodarsku krizu. Istraženi su stavovi ispitanika općenito o virusu COVID-19 te o utjecaju konzumacije voća na obranu od virusa.

U istraživanju provedenom anketnim upitnikom, utvrđeno je da ispitanici redovito konzumiraju voće, ali svjedno više od polovine smatra da ga ne jede dovoljno često. Ispitanici u situaciji pandemije voće najviše kupuje u trgovačkim centrima, ali isto tako smatraju da situacija uzrokovana virusom COVID-19 nije otežala nabavu svježeg voća.

Gotovo svi ispitanici smatraju da konzumacija voća utječe na stanje imunološkog sustava, a čak 86,4% ispitanika smatra da im se nisu promijenile prehrambene navike vezane zakonzumaciju voća za vrijeme pandemije uzrokovane virusom COVID- 19.

## Literatura

- Balić A. (2013). Uloga voća u prehrani, diplomski rad, Kemijsko tehnološki fakultet Split
- Charlebois S. (2020). Why COVID-19 will change Canadian grocery industry forever: Expert. Retail Insider. <https://www.retail-insider.com/retail-insider/2020/03/why-covid-19-will-change-the-food-industry-forever/>
- Jašić, M. (2010). Značaj voća i povrća u prehrani. Tehnologija hrane
- Muscogiuri G., Altieri B., Annweiler C., Balercia G., Pal H. B., Boucher B. J., Cannell J. J., Foresta C., Grübler R., Kotsa K., Mascitelli L., März W., Orio F., Pilz S., Tirabassi G., Colao A. (2017). Vitamin D and chronic diseases: the current state of the art. *Arch. Toxicol*; 91:97–107.
- Richards T. J., Rickard B. (2020). COVID-19 impact on fruit and vegetable markets. *Canadian Journal of Agricultural Economics/Revuecanadienne d'agroéconomie*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7264629/>
- Thurnham D. I. (1997). Micronutrients and immune function: some recent developments. *J Clin Pathol.*50:887–91.
- [www.koronavirus.hr](http://www.koronavirus.hr), URL: <https://www.koronavirus.hr/podaci/489> (Pristup: 19. 8. 2020)

## Research by surveying the influence of coronavirus on fruit consumption

### Abstract

Fruit consumption has experienced a huge increase over the past decade as the results of numerous studies indicate a positive effect of fruit ingredients on human health. The spread of the new coronavirus, SARS-CoV-2 and COVID-19 disease is having an unprecedented effect on all food markets, including the fruit and vegetable market. The aim of the study was to determine whether the COVID-19 virus pandemic has an impact on fruit consumption. The survey was conducted via a Google form within which a survey was conducted which was then posted on the social network Facebook. A total of 463 responses were received. When asked whether they believe that fruit consumption affects the state of the immune system, 97.2% of respondents answered in the affirmative, which speaks volumes about sufficient education and the importance of fruit consumption. According to a survey, 85.1% of respondents believe that the situation caused by the COVID-19 virus did not make it difficult to obtain fresh fruit. 86.4% of respondents believe that their eating habits related to fruit consumption during the pandemic caused by the COVID-19 virus have not changed.

**Key words:** fruit consumption, pandemic, COVID-19

## Diversity of the genus *Rosa* in the Republic of Croatia

Nikola Tomljenović<sup>1</sup>, Tomislav Jemrić<sup>2\*</sup>, Marko Vuković<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Agriculture school Zagreb, Gjure Prejca 2, 10040 Zagreb

<sup>2</sup>University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Unit of Horticulture and Landscape Architecture, Department of Pomology, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia (tjemric@agr.hr)

### Abstract

Croatia is characterized by a large natural occurrence of the genus *Rosa* throughout its territory. The aim of this study was to determine the biodiversity and breeding potential in 11 genotypes of *Rosa* spp. from different parts of Croatia. The genotype had a significant influence on all studied pomological traits (fruit length and width, medium geometric diameter, sphericity, volume, surface area, shape index, fruit mass, flesh mass, fruit flesh ratio, total dry matter content), while it failed to influence the number of spines per 10 cm shoot. In the majority of the studied traits important for breeding, genotype G2 obtained the highest, while G6 the lowest values. This study highlights the high breeding potential of *Rosa* spp. in Croatia due to its high variability. This is a one-year study and research should be continued to draw a final conclusion.

**Keywords:** wild rose, *Rosa* spp., biodiversity

### Introduction

Genus *Rosa* is widely distributed in Croatia with 37 species (Nikolić, 2018). Relationships within this genus (especially in the section *Caninae*) have remained unclear and sometimes confused due to difficulties in species identification and taxonomic boundaries, which are extremely complex and still under investigation (Tomljenović and Pejić, 2018). Due to their nutritional value, some species of this genus have the potential for use in medicine, cosmetics and food industry. Therefore, there is an increasing interest in breeding to obtain superior cultivars for conventional and organic cultivation. The aim of this work is to determine the genotypic diversity within the genus *Rosa* in the Republic of Croatia, which could contribute to the development of new cultivars.

### Materials and methods

In order to evaluate the pomological variability of the native populations of the genus *Rosa*, eleven genotypes were selected and sampled from different parts of Croatia. The genotypes were designated from G1 to G11 and their origin is given in Table 1.

Table 1. Origin of studied *Rosa* spp. genotypes

Genotype	Origin
G1	Korčula
G2, G3, G4	Đurđevac
G5	Podravska Slatina
G6, G7	Grižići
G8, G9	Dedin
G10	Kukurini
G11	Veliki Alan



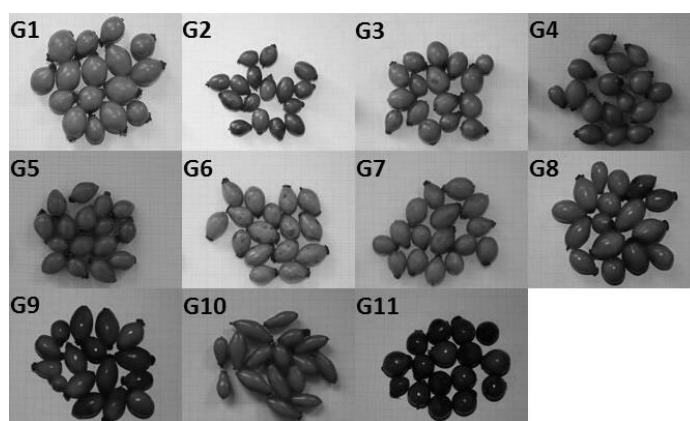


Figure 1. Pictures of fruits of *Rosa* spp. genotypes with associated markings (G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G8, G9, G10 and G11)

In the morphological analysis, the number of spines per 10 cm shoot was measured. Two shoots per genotype were taken from biennial twigs and 10 cm sample was obtained from the upper and lower third of each shoot. Thus, the number of spines was measured on four samples per genotype. For pomological analysis, the following traits were measured: length (mm), width (mm), medium geometric diameter (mm), sphericity (%), volume (mm<sup>3</sup>), surface area (mm<sup>2</sup>), shape index, fruit mass (g), fruit flesh mass (g), fruit flesh ratio (%) and total dry matter content (%). The fruits were harvested in 2010 and were afterwards transferred to the laboratory of the Department of Pomology, Unit of Horticulture and Landscape Architecture, University of Zagreb Faculty of Agriculture, where measurements were carried out. The fruits of the studied genotypes of *Rosa* spp. are shown in Figure 1. For each pomological trait (except the total dry matter content), 20 fruits from each genotype were analysed. Fruit total dry matter content was analysed on three joint samples per genotype (60 fruits in total, since 1 joint sample consisted of 20 fruits). Fruit length and width (mm) were measured using Prowin HMTY0006 digital caliper. Fruit mass (g) and fruit flesh mass (g) were measured using OHAUS Adventurer AX2202 analytical balance. Fruit flesh ratio (%) was calculated using the following equation: (fruit mass / flesh mass) x 100). Fruit sphericity, volume, surface area and medium geometric diameter were calculated according to equations reported by Demir and Kalyoncu (2003, after Jain and Bal, 1997 and McCabe et al., 1986). Fruit shape index was calculated as a ration between fruit length and width. Fruit total dry matter content was determined according to Ghiorghită et al. (2012) and Güneş (2010), and samples were dried using Binder ED115 dryer.

Data were statistically analyzed using SAS statistical software ver. 9.4 (SAS Institute, NC) using ANOVA and Tukey's HSD test ( $P \leq 0.05$ ).

## Results and discussion

According to ANOVA, no significant difference was found when *Rosa* spp. genotypes were divided into three different classes with respect to their origin (genotypes from mainland, mountainous and Mediterranean part of Croatia), and it can be assumed that hereditary factors had a stronger influence than ecological ones (data not shown). Therefore, all genotypes were statistically evaluated together. Genotype had a significant effect on all studied traits whit exception of the number of spines per 10 cm shoot (Tables 2 and 3).

Genotype G2 had the highest mean fruit length and width values ( $23.52 \pm 2.39$  and  $16.11 \pm 1.08$  mm, respectively), while genotype G6 had the lowest fruit length values ( $15.01 \pm 1.79$  mm) and fruit width G10 ( $9.08 \pm 1.17$  mm) (Table 1). In Turkey, Celik et al. (2009) reported

that the fruit length of *Rosa* spp. ranged from 15.28 to 33.83 mm and the width from 13.11 to 19.26 mm. More or less similar values were also reported from Turkey (Ekincialp and Kazankaya, 2012; Ercişli and Eşitken, 2004) and Hungary (Kovács et al., 2000). The fruit length and width values obtained in this study are equal or slightly lower than those obtained in other studies. Significantly the highest fruit medium geometric diameter had genotype G2 ( $18.26 \pm 1.29$  mm), while the lowest G6 and G10 ( $11.18 \pm 1.26$  and  $11.69 \pm 1.47$ , respectively) (Table 1). Significantly the highest fruit sphericity had genotype G11 ( $0.90 \pm 0.08$  %), while the lowest G10 ( $0.60 \pm 0.05$  %) (Table 1). Significantly the highest fruit volume and fruit surface area had genotype G2 ( $818.87 \pm 109.27$  mm<sup>3</sup> and  $1052.58 \pm 149.96$  mm<sup>2</sup>, respectively), while genotypes G6 ( $298.54 \pm 78.16$  mm<sup>3</sup> and  $397.12 \pm 87.94$  mm<sup>2</sup>, respectively) and G10 ( $262.94 \pm 66.74$  mm<sup>3</sup> and  $435.47 \pm 108.35$  mm<sup>2</sup>, respectively) had the lowest values (Table 1). Genotype G10 ( $2.15 \pm 0.27$ ) had the significantly highest fruit shape index (more elongated fruits), while G11 ( $1.19 \pm 0.22$ ) had the lowest (more round fruits) (Table 1). In Turkey, the fruit shape index among *Rosa* spp. varied from 1.32 to 2.41 (Ekincialp and Kazankaya, 2012) and from 1.23 to 1.81 (Ersoy and Özen, 2016). In Hungary, the fruit shape index varied from 1.18 to 2.14 in *Rosa* spp. (Kovács et al., 2000). The results obtained in this study follow the literature cited above.

Significantly, genotype G2 had the highest fruit mass ( $2.90 \pm 0.58$  g), while genotypes G6 and G10 had the lowest ( $0.76 \pm 0.24$  and  $0.88 \pm 0.32$  g, respectively) (Table 2). Genotype G2 had the highest mean flesh mass ( $2.15 \pm 0.43$  g), while G6 had the lowest ( $0.55 \pm 0.17$  g) (Table 2). In Turkey, fruit mass in *Rosa* spp. ranged from 1.55 to 3.92 g (Ekincialp and Kazankaya, 2012) and from 3.15 to 4.80 g (Ercişli and Eşitken, 2004). In Tunisia, fruit mass of four *Rosa* species varied from 0.90 to 1.90 g and flesh mass from 0.69 to 1.20 g (Ben Cheikh-Affene et al., 2015). The values obtained in this study for fruit mass are similar or slightly lower than those reported in Turkey and Tunisia, while for fruit flesh mass are similar or slightly higher than those reported in Tunisia. Genotype G2 had the highest mean fruit flesh ratio ( $74.03 \pm 4.32$  %), while G7 had the lowest ( $61.27 \pm 5.99$  %) (Table 2). Since the fruits are usually processed, fruit flesh ratio is an economically important trait (Gueñez, 2010). In Turkey, Ekincialp and Kazankaya (2012) reported that the mean values of fruit flesh ratio of *Rosa* spp. ranged from 59.33 to 76.69 % and Ercişli and Eşitken (2004) from 63.11 to 71.13 %. The results in this study are consistent with the cited literature. The highest mean fruit total dry matter content had genotype G5 ( $38.69 \pm 1.23$  %), and the lowest G9 ( $26.45 \pm 0.85$  %) (Table 2). In Turkey, the fruit total dry matter content of *Rosa* spp. varied from 33.85 to 40.35 % (Ercişli, 2007) and from 34.82 to 40.15 % (Ercişli and Eşitken, 2004). Turkish studies obtained higher values which can be contributed to the effect of agro-ecological conditions, harvest date, fruit size and probably genetic potential. Genotype G8 had the highest mean number of spines ( $10.75 \pm 3.30$  spines  $\cdot$  10 cm shoot<sup>-1</sup>) and the lowest G3 ( $5.25 \pm 0.96$  spines  $\cdot$  10 cm shoot<sup>-1</sup>) (Table 2). In Tunisia, Ben Cheikh-Affene et al. (2015) reported that in *Rosa* spp. the mean number of spines varied from 6.2 to 36.5 spines 10 cm shoot<sup>-1</sup>.

## Conclusion

This study included eleven genotypes in three geographically and ecologically distinct regions. For most important traits, genotype G2 scored the highest and G6 the lowest results. Genotypes G1, G2, G3 and G4 showed promising potential that can be further exploited in the breeding process. This study highlighted the breeding potential of the *Rosa* spp. population in Croatia by emphasizing its high variability. This is a one-year study and research should be continued to draw a final conclusion.

Table 2. Length, width, medium geometric diameter (Md), sphericity, volume, surface area and shape index of fruits of *Rosa* spp. genotypes (mean and standard deviation)

Genotype	Fruit length (mm)	Fruit width (mm)	Md (mm)	Sphericity (%)		Volume (mm <sup>3</sup> )	Surface area (mm <sup>2</sup> )	Shape index
				Mean	± standard deviation			
G1	19.85 ± 1.64 bcd	14.37 ± 1.08 b	15.99 ± 1.12 b	0.81 ± 0.04 b		652.07 ± 98.79 b	807.18 ± 113.79 b	1.38 ± 0.10 d
G2	23.52 ± 2.39 a	16.11 ± 1.08 a	18.26 ± 1.29 a	0.78 ± 0.05 bc		818.87 ± 109.27 a	1052.58 ± 149.96 a	1.46 ± 0.12 cd
G3	21.56 ± 1.27 ab	13.24 ± 0.81 bc	15.56 ± 0.73 b	0.72 ± 0.04 c		552.28 ± 68.34 c	762.48 ± 71.94 b	1.63 ± 0.13 b
G4	20.99 ± 2.71 bc	13.29 ± 0.77 bc	15.45 ± 1.04 bc	0.74 ± 0.08 c		556.63 ± 63.91 c	752.68 ± 99.22 bc	1.58 ± 0.19 bc
G5	19.62 ± 1.73 bcd	12.04 ± 1.11 d	14.16 ± 1.24 d	0.72 ± 0.03 c		458.85 ± 85.78 d	634.46 ± 112.55 d	1.63 ± 0.09 bc
G6	15.01 ± 1.79 e	9.67 ± 1.29 e	11.18 ± 1.26 e	0.75 ± 0.06 c		298.54 ± 78.16 e	397.12 ± 87.94 e	1.57 ± 0.20 bc
G7	18.43 ± 1.42 d	11.62 ± 1.04 d	13.54 ± 1.11 d	0.74 ± 0.03 c		427.29 ± 74.78 d	580.00 ± 92.74 d	1.59 ± 0.09 bc
G8	18.64 ± 2.29 d	12.59 ± 1.03 cd	14.32 ± 1.04 cd	0.78 ± 0.07 bc		501.47 ± 80.98 dc	647.59 ± 92.99 cd	1.49 ± 0.20 bcd
G9	18.09 ± 1.59 d	11.52 ± 0.98 d	13.39 ± 1.07 d	0.74 ± 0.03 c		419.94 ± 68.07 d	566.36 ± 89.27 d	1.57 ± 0.11 bc
G10	19.47 ± 3.04 cd	9.08 ± 1.17 e	11.69 ± 1.47 e	0.60 ± 0.05 d		262.94 ± 66.74 e	435.47 ± 108.35 e	2.15 ± 0.27 a
G11	15.52 ± 1.44 e	13.26 ± 1.57 bc	13.95 ± 1.32 d	0.90 ± 0.08 a		559.80 ± 118.32 c	616.28 ± 111.65 d	1.19 ± 0.22 e

Note: means followed by the same letter with the same year are not significant according to Tukey's HSD test at  $P \leq 0.05$  significance level

Table 3. Fruit mass, flesh mass, fruit flesh ratio, fruit total dry matter content and number of spines of *Rosa* spp. genotypes

Genotype	Fruit mass (g)		Fruit flesh ratio (%)		Fruit total dry matter content (%)		Number of spines (spines · 10 cm shoot <sup>-1</sup> )	
			Mean	± standard deviation				
G1	2.12 ± 0.43 b	1.43 ± 0.25 b	67.46 ± 3.34 abcd		36.20 ± 0.41 ab		7.75 ± 1.71 a	
G2	2.90 ± 0.58 a	2.15 ± 0.43 a	74.03 ± 4.32 a		27.80 ± 0.91 d		5.75 ± 2.63 a	
G3	1.84 ± 0.25 bcd	1.24 ± 0.23 bcd	67.10 ± 4.81 abcd		35.20 ± 0.14 ab		5.25 ± 0.96 a	
G4	1.91 ± 0.33 bc	1.30 ± 0.21 bc	68.51 ± 2.44 abc		35.35 ± 1.96 ab		6.25 ± 0.50 a	
G5	1.43 ± 0.38 e	0.89 ± 0.22 fe	62.39 ± 4.22 cd		38.69 ± 1.23 a		6.25 ± 1.71 a	
G6	0.76 ± 0.24 f	0.55 ± 0.17 h	73.58 ± 7.28 ab		34.05 ± /bc		7.50 ± 1.29 a	
G7	1.32 ± 0.31 e	0.80 ± 0.20 fhg	61.27 ± 5.99 d		37.15 ± 0.25 ab		6.00 ± 1.41 a	
G8	1.51 ± 0.28 ed	1.04 ± 0.21 fed	69.18 ± 4.54 abc		30.19 ± /cd		10.75 ± 3.30 a	
G9	1.26 ± 0.26 e	0.84 ± 0.16 feg	67.75 ± 5.18 abcd		26.45 ± 0.85 d		5.50 ± 4.51 a	
G10	0.88 ± 0.32 f	0.61 ± 0.30 hg	66.66 ± 20.53 bcd		38.13 ± /ab		8.00 ± 1.41 a	
G11	1.56 ± 0.30 ced	1.09 ± 0.20 ced	70.04 ± 4.09 ab		27.15 ± 1.28 d		6.25 ± 1.26 a	

Note: means followed by the same letter with the same year are not significant according to Tukey's HSD test at  $P \leq 0.05$  significance level

## References

- Ben Cheikh-Affene Z.B., Haouala F., Harzallah-Skhiri F. (2015). Morphometric variation and taxonomic identification of thirteen wild rose populations from Tunisia. *Acta Botanica Croatica*. 74: 1–17.
- Celik F., Kazankaya A., Ercisli S. (2009). Fruit characteristics of some selected promising rose hip (*Rosa* spp.) genotypes from Van region of Turkey. *African Journal of Agricultural Research*. 4: 236–240.
- Demir F., Kalyoncu I. H. (2003). Some nutritional, pomological and physical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Journal of Food Engineering*. 60: 335–341.
- Ekinci alp A., Kazankaya A. (2012). Determination of some physical and chemical properties in rosehip (*Rosa* spp.) genotypes in Hakkari region. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*. 22: 7–11.
- Ercişli S. (2007). Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry*. 104: 1379–1384.
- Ercişli S., Eşitken A. (2004). Fruit characteristics of native rose hip (*Rosa* spp.) selections from the Erzurum province of Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 32: 51–53.
- Ersoy N., Özen M. S. (2016). Some physico-chemical characteristics in fruits of rose hip (*Rosa* spp.) genotypes from Bolu province in western part of Turkey. *Agro-knowledge Journal*. 171: 191–201.
- Ghiorghişă G., Maftai D. E., Nicuta D., Rati I. V. (2012). Study of several parameters in *Rosa canina* L. genotypes from native habitats in Romania and the in vitro response of this species. *Academy of Romanian Scientists, Annals Series on Biological Sciences*. 1: 91 – 109.
- Güneş M. (2010). Pomological and phenological characteristics of promising rose hip (*Rosa*) genotypes. *African Journal of Biotechnology*. 9: 6301–6306.
- Jain R. K., Bal S. (1997). Physical properties of pearl millet. *Journal of Agricultural Engineering Research*. 66, 85–91.
- Kovács S., Tóth M.G., Facsar G. (2000). Fruit quality of some rose species native in Hungary. *Acta Horticulturae*. 538: 103–109.
- McCabe W. L., Smith J. C., Harriott P. (1986). *Unit operations of chemical engineering*. Mc Graw-Hill, New York, USA.
- Nikolić T. (2018). *Flora Croatica baza podataka*. On-Line (<http://hirc.botanic.hr/fcd>).
- Tomljenović N., Pejić I. (2018). Taxonomic review of the genus *Rosa*. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 83: 139–147.

## Diverzitet roda *Rosa* u Republici Hrvatskoj

### Sažetak

Hrvatsku karakterizira velika prisutnost roda *Rosa* kroz cijeli teritorij. Svrha ovog istraživanja je utvrditi postojanje bioraznolikosti i oplemenjivački potencijal jedanaest *Rosa* spp. genotipova podrijetlom iz različitih dijelova Republike Hrvatske. Genotip je ostvario signifikantan utjecaj na sve istraživane pomološke parametre, dok na broj trnova na 10 cm izbojka, nije ostvario signifikantan utjecaj. U većini istraživanih parametara koji su bitni u procesu oplemenjivanja genotip G2 je ostvario najbolje, a genotip G6 najlošije rezultate. Ovo istraživanje naglašava postojanje velike varijabilnosti *Rosa* spp. populacije u Hrvatskoj i njezin veliki oplemenjivački potencijal. Da bi se dobili konačni rezultati, potrebno je provesti višegodišnja istraživanja.

**Ključne riječi:** divlja ruža, *Rosa* spp., bioraznolikost

## Kemijski sastav ploda sorti slatke naranče (*Citrus sinensis* L.)

Sandra Voća<sup>1</sup>, Jana Šic Žlabur<sup>1</sup>, Jasmina Družić<sup>2</sup>, Tomislav Jurković<sup>3</sup>, Martina Skendrović Babojelić<sup>1</sup>, Ante Galić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (jszlabur@agr.hr)

<sup>2</sup>Institut Ruđer Bošković; Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Diplomski studij, Hortikultura, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Cilj rada bio je utvrditi nutritivni sastav i sadržaj bioaktivnih spojeva triju sorti slatke naranče: 'Skaggs Bonanza Navel', 'Parent Navel' i 'Tarocco'. Analizom nutritivnog sastava utvrđene su značajne statističke razlike u svim istraživanim svojstvima. Sorta 'Skaggs Bonanza Navel' istaknula se nutritivnim sastavom te su kod nje određene najveće vrijednosti suhe tvari (13,32 %), topljive suhe tvari (11,80 %), ukupnih fenola (187,55 mg GAE/100 g sv.t.), flavonoida (107,14 mg CTH/100 g sv.t.), neflavonoida (80,29 mg GAE/100 g sv.t.) te antioksidacijskog kapaciteta (1,63 mmol TE/L). Temeljem dobivenih rezultata može se zaključiti kako na kvalitetu plodova, osim pedoklimatskih čimbenika, stupnja zrelosti te agrotehničkih i pomotehničkih mjera značajno utječu i genetske karakteristike.

**Ključne riječi:** *Citrus sinensis* L., sorta, kemijski sastav, vitamin C, ukupni fenoli, antioksidacijski kapacitet

### Uvod

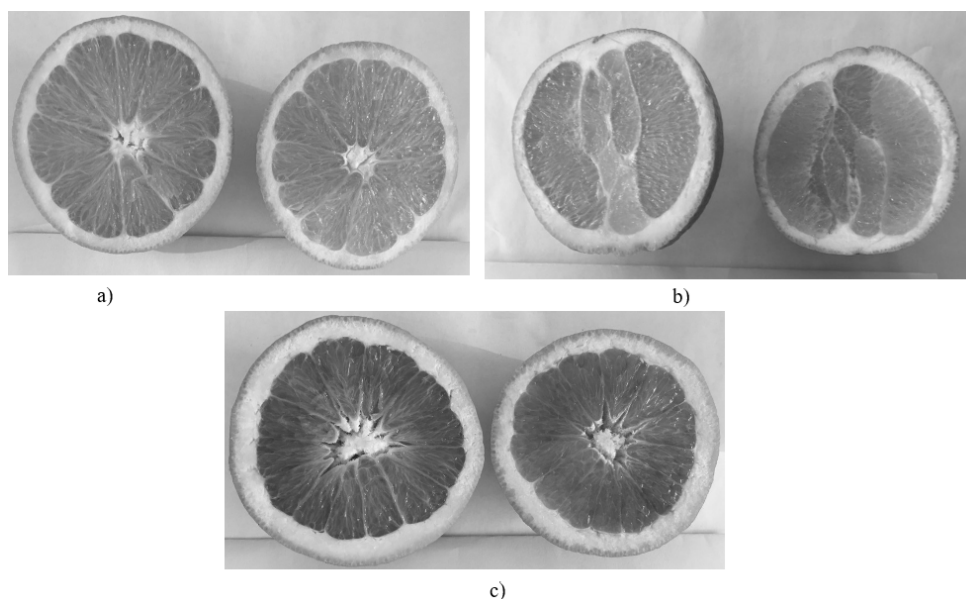
Najveći udio u svjetskoj proizvodnji agruma zauzima proizvodnja naranči. Najzastupljeniji uzgoj agruma u Republici Hrvatskoj je u Dubrovačko-neretvanskoj županiji gdje ima dugu tradiciju (Bakarić, 1998.; Gugić i Cukrov, 2011.). Istraživanja su pokazala kako plod naranče sadrži velike količine vitamina C kao i bioaktivnih spojeva, prvenstveno fenola poput flavanon glikozida, hidroksicinaminske kiseline i flavona. Zbog tako bogatog sastava antioksidacijskih spojeva koji blagotvorno djeluju na zdravlje ljudi (Siche i sur., 2016.), upravo je ta vrsta agruma popularna u proizvodnji i konzumaciji od strane potrošača. Istraživanjima je također utvrđeno kako sok ploda, ekstrakti dobiveni iz ploda i eterična ulja djeluju antikancerogeno, protuupalno, antifungalno, anibakterijski i dr. (Sarrou i sur., 2013.).

Gotovo sva provedena istraživanja pokazala su kako kemijski sastav i antioksidacijska aktivnost ploda, kao i nusprodukata, ponajviše ovise o sorti i vremenu dozrijevanja i berbe (Faller i sur., 2010.; Jabri kaouri i sur., 2013.), zatim o klimatskim čimbenicima kao i napadu patogena (Faller i sur., 2010.). Dok su u svjetskoj literaturi pronađeni brojni podaci, u Republici Hrvatskoj nije bilo sustavnijih istraživanja bioaktivnih spojeva u sortama slatke naranče (*Citrus sinensis* L. Osbeck), a koje se uzgajaju u pedo-klimatskim uvjetima južne Dalmacije. Stoga je cilj ovog istraživanja pokazati razlike u nutritivnom sastavu različitih sorti slatke naranče uzgojenih na području Opuzena.

## Materijal i metode

### Biljni materijal

Istraživanje je provedeno na plodovima triju sorti slatke naranče (*Citrus sinensis* L.): 'Skaggs Bonanza Navel', 'Parent Navel' i 'Tarocco' (Slika 1). Plodovi svih sorti ubrani su u nasadima OPG-a s područja Opuzena u optimalnom stadiju zrelosti, krajem prosinca. Od svake sorte ubrano je po 20 plodova nasumičnim odabirom s ukupno 5 stabala. Plodovi su nakon berbe dopremljeni u laboratorij Zavoda za poljoprivrednu tehnologiju, skladištenje i transport na Sveučilištu u Zagrebu Agronomskom fakultetu gdje su provedena sva daljnja istraživanja.



Slika 1. Plodovi slatke naranče (*Citrus sinensis* L.) različitih sorti: a) 'Skaggs Bonanza Navel'; b) 'Parent Navel'; c) 'Tarocco'

Za potrebe analize osnovnih fizikalno-kemijskih svojstava plodova korištene su standardne laboratorijske metode prema AOAC (1995.): sadržaj suhe tvari (ST, %) određen je sušenjem na 105 °C do konstantne mase, sadržaj topljive suhe tvari (TST, %) digitalnim refraktometrom (Mettler Toledo, Refracto 30PX, SevenMulti Company, Švicarska), sadržaj ukupnih kiselina (UK\_KIS, %) potenciometrijskom titracijom i pH- vrijednost digitalnim pH metrom (Mettler Toledo, SevenMulti, Switzerland).

Od bioaktivnih spojeva analiziran je sadržaj: vitamina C titracijom s 2,6 diklorindofenolom prema standardnoj metodi za voće i povrće (AOAC, 2002.) i izražen kao mg/100 g svježe tvari, te sadržaj ukupnih fenolnih spojeva uključujući flavonoide i neflavonoide, spektrofotometrijski (Shimadzu, UV 1650 PC) prema metodi koja se osniva na kolorimetrijskoj reakciji koju fenolni spojevi razvijaju s Folin-Ciocalteu reagensom. Intenzitet nastalog plavog obojenja mjeren je kod 750 nm spektrofotometrijski uz destiliranu vodu kao slijepu probu. Postupak izolacije fenolnih spojeva kao i identifikacija istih provedeni su prema standardnoj metodi opisanoj u radu Ough i Amerine (1988.). Kao vanjski standardi korišteni su galna kiselina za ukupne fenolne spojeve i katehin za ukupne neflavonoide, dok je sadržaj ukupnih flavonoida izražen matematički iz razlike ukupnih fenolnih spojeva i neflavonoida. Sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva izražen je kao mg GAE/CAT 100 g svježe tvari.

Antioksidacijski kapacitet je određen prema ABTS testu prema Re i sur. (1999.), a pri čemu je za potrebe određivanja istog korišten etanolni ekstrakt priprmljen za potrebe izolacije ukupnih fenolnih spojeva. Antioksidacijski kapacitet određen je spektrofotometrijski kod 734 nm Trolox kao vanjski standard. Konačni rezultat antioksidacijskog kapaciteta izražen je kao mmol TE/L.

#### Statistička analiza

Ukupni uzorak od 20 plodova svake sorte ploda naranče ubran je s 5 nasumično odabranih stabala. Sve laboratorijske analize provedene su u tri ponavljanja za svaki uzorak. Za potrebe određivanja signifikantnih razlika između svojstava analiziranih sortimenata korištena je jednosmjerna ANOVA i Duncanov test, pomoću statističkog paketa SAS (ver. 9.3, 2010.). Srednje vrijednosti uspoređene su LSD testom, pri čemu je  $p=5\%$  smatrana signifikantnim pragom razlika. U tablicama su uz srednje vrijednosti iskazana i različita slova kojima je naznačena signifikantna statistička razlika pri  $p\leq 0,0001$  kao i standardna devijacija.

#### Rezultati i rasprava

U Tablici 1. prikazani su rezultati fizikalno-kemijskih svojstava plodova različitih sorti slatke naranče. Svi istraživani parametri statistički se značajno razlikuju. Najveći sadržaj suhe tvari kao i topljive suhe tvari imala je sorta 'Skaggs Bonanza Navel' (13,32 %; 11,8 %), a najmanje sorta 'Tarocco' (12,42 %; 11,12 %). Dobiveni rezultati ukupne kiselosti iznosili su od 0,53 % kod sorte 'Parent Navel' do 1,07 % kod sorte 'Skaggs Bonanza Navel'. pH vrijednosti bile su u rasponu od 3,22 za sortu 'Tarocco' do 3,77 za sortu 'Parent Navel'. Uspoređujući dobivene rezultate s literaturnim podacima, utvrđene su razlike, odnosno sadržaj suhe tvari kao i topljive suhe tvari u ovom istraživanju je nešto viši u usporedbi s istraživanjem autora Siche i sur. (2016.) koji navode vrijednosti topljive suhe tvari od 10,49%. Razlozi ovog odstupanja mogući su zbog pedoklimatskih uvjeta koji variraju ovisno o godini, stupnju zrelosti, roku berbe, ali i agrotehničkim mjerama. Prema Bakariću (1998.) sadržaj ukupnih kiselina plodova naranči kretao se u rasponu od 1,1 % do 1,8 %, dok se kod Rapisarda i sur. (2008.) kretao od 1,11 % do 1,2 %, a za sortu 'Tarocco' od 1,38 % do 1,40%. Prema Ramful i sur. (2011.) plodovi sorte 'Washington Navel' sadržavali su 0,74 % ukupnih kiselina, a Siche i sur. (2016.) navode vrijednosti od 0,51 %. Rezultati sadržaja ukupnih kiselina plodova naranči iz ovog istraživanja imaju nešto niže vrijednosti ovisno o istraživanoj sorti. Kada je riječ o pH vrijednosti, dobiveni rezultati podudaraju se s onima iz istraživanja Rapisarda i sur. (2008.) koji su istraživali sortu 'Tarocco', a čija se pH vrijednost kretala od 3,46 do 3,70. U istraživanjima Siche i sur. (2016.) pH vrijednost iznosila je 4,11.

Tablica 1. Fizikalno-kemijska svojstva plodova različitih sorti slatke naranče

Sorta	ST (%) $p\leq 0,0047$	TST (%) $p\leq 0,0001$	UK_KIS (%) $p\leq 0,0019$	pH $p\leq 0,0002$
'Skaggs Bonanza Navel'	13,32a±0,08	11,80a±0,05	1,07a±0,11	3,39b±0,11
'Parent Navel'	12,97a±0,22	11,35b±0,05	0,53b±0,09	3,77a±0,04
'Tarocco'	12,42b±0,26	11,12c±0,10	0,88a±0,09	3,22c±0,11

ST – sadržaj suhe tvari; TST – sadržaj topljive suhe tvari; UK\_KIS – sadržaj ukupnih kiselina. Različita slova prikazuju siginifikantne statističke razlike između srednjih vrijednosti.

U Tablici 2. prikazani su rezultati sadržaja bioaktivnih spojeva i antioksidacijskog kapaciteta plodova različitih sorti slatke naranče. Najveći sadržaj vitamina C utvrđen je u sorti 'Tarocco' (63,43 mg/100 g sv.t.), a najmanji u sorti 'Parent Navel' (40,71 mg/100 g sv.t.) prilikom čega su utvrđene i visoko signifikante statističke razlike između svih istraživanih sorti Sadržaj

ukupnih fenola je također pokazao značajne statističke razlike. Vrijednosti su iznosile od 157,65 mg GAE/100 g sv.t. za sortu 'Parent Navel' do 187,55 mg GAE/100 g sv.t. za sortu 'Skaggs Bonanza Navel'. Također su utvrđene i najmanje vrijednosti flavonoida kao i neflavonoida u sorti 'Parent Navel', a najveće u sorti 'Skaggs Bonanza Navel'. Vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta bile su ujednačene u sortama 'Parent Navel' i 'Tarocco' i iznosile su 1,55 mmol TE/L, dok je sorta 'Skaggs Bonanza Navel' imala nešto veću vrijednost, 1,63 mmol TE/L. Prema Ramful i sur. (2011.) sadržaj vitamina C iznosio je za sortu 'Skaggs Bonanza Navel' 53,9 mg/100 mL te sortu 'Tarocco' od 57,0 do 78,1 mg/100 mL. U plodovima naranče sorte 'Tarocco' sadržaj vitamina C prema autorima Rapisarda i sur. (2008.) bio je u rasponu od 55,37 mg/100 mL do 64,78 mg/100 mL. Uspoređujući rezultate drugih istraživanja s ovim, vrijednosti sadržaja vitamina C su ujednačene. Sadržaj ukupnih fenola u istraživanju Rapisarda i sur. (2008.) za sortu 'Tarocco' kretao se od 507,13 mg /L do 523,74 mg/L. U istraživanju Ramful i sur. (2011.) vrijednosti za flavonoide iznosile su od 400 do 600 µg/g s.t. Velike razlike u sadržaju fenola, flavonoida i neflavonoida dobivenih u ovom istraživanju, u odnosu na rezultate drugih istraživanja, mogu biti posljedica različitih pedoklimatskih uvjeta, rokova berbe, zrelosti plodova kao i lokacije uzgoja. Također, uspoređujući rezultate antioksidacijskog kapaciteta ovog istraživanja s literaturnim navodima, može se ustanoviti niži antioksidacijski kapacitet plodova iz ovoga istraživanja u odnosu na literaturne navode (5,29 µmol Trolox/g sv.t.) (Ramful i sur. 2011.). Razlozi ovome odstupanju mogu biti vrijeme berbe, lokalitet, zrelost ploda, sorta, odnosno genetske karakteristike, pedoklimatski uvjeti, ali i agrotehničke mjere.

Table 2. Sadržaj bioaktivnih spojeva i antioksidacijski kapacitet plodova različitih sorti slatke naranče

Sorta	Vitamin C (mg/100 g sv.t.)	Fenoli (mg GAE/100 g sv.t.) p≤0,0029	Flavonoidi (mg CTH/100 g sv.t.)	Neflavonoidi (mg GAE/100 g sv.t.)	Antioksidacijski kapacitet (mmol TE/L)
	p≤0,0001		p≤0,0121	NS	p≤0,0005
'Skaggs Bonanza Navel'	53,53b±0,78	187,55a±4,83	107,14a±5,85	80,29±1,49	1,63a ±0,13
'Parent Navel'	40,71c±0,38	157,65b±6,25	82,77b±2,29	74,88±4,05	1,55b±0,16
'Tarocco'	63,43a±1,34	163,91b±6,89	85,26b±1,09	78,66±3,12	1,55b±0,14

## Zaključak

Sve istraživane sorte slatke naranče značajno su se statistički razlikovale u svim analiziranim parametrima kemijsko-fizikalnih svojstava i sadržaju bioaktivnih spojeva. Temeljem dobivenih rezultata može se zaključiti kako se značajnim nutritivnim sastavom ističe sorta 'Skaggs Bonanza Navel', u čijem plodu su utvrđene najveće vrijednosti suhe tvari, topljive suhe tvari, ukupnih fenola, flavonoida, neflavonoida kao i antioksidacijski kapacitet. Na kvalitetu plodova, osim sorte i klimatskih uvjeta, utječu i drugi parametri. Ovo istraživanje može poslužiti za detaljnija istraživanja nutritivnog sastava plodova agruma s uzgojnog područja Republike Hrvatske, a što bi u konačnici značajno pridonijelo isticanju sorti bogatog nutritivnog sastava s područja neretvanske doline.



## Literatura

- AOAC (1995). Official methods of Analysis (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC (2002). Official methods of Analysis (17th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists..
- Bakarić P. (1998). Naranča. Zadružni savez Dalmacije „Zadrugar“, Split.
- Faller A. L. K, Fialho E. (2010). Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23: 561–568.
- Gugić J., Cukrov L. (2011) Pregled stanja i perspektiva razvoja hrvatskog agrumarstva. *Pomologia Croatica*, 17, 3-4, 115-133.
- Jabri Kaouri, I., Marzouk B. (2013). Characterization of Bioactive Compounds in Tunisian Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.) Peel and Juice and Determination of Their Antioxidant Activities. Hindawi Publishing Corporation. *BioMed Research International*, 2013: 1-12, Article ID 34541512 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/345415>.
- Ough C. S., Amerine M. A. (1988.): *Methods for Analysis of Musts and Wines*. John Wiley and Sons. New York. USA
- Ramful D., Tarnus E., Aruoma O. I., Bourdon E., Bahorun T. (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*. 44(7): 2088-2099.
- Rapisarda P., Bianco M. L., Pannuzzo P., Timpanaro N. (2008). Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biology and Technology*. 49(3): 348-354.
- Re R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. A. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9-10): 1231-1237.
- Sarrou E., Chatzopoulou P., Dimmasi-Theriou K., Therios I. (2013). Volatile Constituents and Antioxidant Activity of Peel, Flowers and Leaf Oils of *Citrus aurantium* L. Growing in Greece. *Molecules*, 18:10639-10647.
- Siche R., Ávalos C., Arteaga H., Saldaña E., Vieira M. F. S. T. (2016). Antioxidant Capacity of Binary and Ternary Mixtures of Orange, Grape and Starfruit Juices. *Current Nutrition & Food Science*, 12: 65-71.
- SAS/STAT (2010). *Verzija 9.3*; SAS Institute. Cary, NC, SAD.

## Nutritional composition of different cultivars of sweet orange (*Citrus sinensis* L.)

### Abstract

The aim of this study was to determine the nutrient composition and bioactive compounds content of three cultivars of sweet orange: 'Skaggs Bonanza Navel', 'Parent Navel' and 'Tarocco'. The analysis of nutrient composition showed significant statistical differences in all studied parameters. The cultivar 'Skaggs Bonanza Navel' stood out in the nutrient with the highest values for dry matter (13.32%), total soluble solids (11.80%), total phenols (187.55 mg GAE/100 g FW), flavonoids (107.14 mg CTH/100 g FW), neoflavonoids (80.29 mg GAE/100 g FW) and antioxidant capacity (1.63 mmol TE/L). From the obtained results, it can be concluded that fruit quality is influenced by parameters such as ripeness, agro- and pomotechnical measures, growing locations and others, in addition to the cultivar and climatic conditions.

**Key words:** cultivar, chemical composition, total phenolics, vitamin C, antioxidant capacity

## Značaj samoniklih voćnih vrsta u održivom razvoju ruralnih područja Požeške kotline

Dinko Zima<sup>1</sup>, Ivica Šnajder<sup>1</sup>, Blanka Đimoti Zima<sup>2</sup>, Leona Zima<sup>3</sup>, Mario Jakobović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Veleučilište u Požegi, Vukovarska 17, Požega, Hrvatska (dzima@vup.hr)

<sup>2</sup>Osnovna škola Dobriša Cesarić, Slavonska ulica 8, Požega

<sup>3</sup>Gimnazija Požega, Ulica Franje Tuđmana 4, Požega

### Sažetak

Ruralnom području Hrvatske pripada oko 91,6 % površina i oko 47,6 % stanovništva. Cilj rada je utvrditi koje se samonikle voćne vrste nalaze u Požeškoj kotlini te kako se mogu upotrijebiti u održivom razvoju ruralnih područja tog kraja. Analizom je utvrđeno 75 samoniklih voćnih vrsta koje su zastupljene u 12 porodica i 23 rodova. Najvećom brojnošću samoniklih voćnih vrsta izdvaja se porodica Rosaceaea. Od životnih oblika najzastupljeniji su fanerofiti, a prema flornim elementima kultivirane i adventivne biljke. Obzirom na veliki broj samoniklih voćnih vrsta u Požeškoj kotlini one bi se mogle koristiti za dobivanje visokokvalitetnih plodova, za pošumljavanje i sprečavanje erozije, kao dekorativne vrste, kao značajna pčelinja paša, a značajno može biti i sakupljanje plodova samonikog voća.

**Ključne riječi:** samoniklo voće, Požeška kotlina, održivi razvoj, ruralna područja

### Uvod

Ruralno područje RH čini 91,6 % od ukupne površine, a na tom području živi 47,6 posto stanovništva. (HMRR, Odraz, 2011)

Za stanovništvo koje živi u ruralnim zonama i koje se pretežito bavi poljoprivrednim djelatnostima te koje nema mogućnosti za prekvalifikaciju niti potencijale za prijam novih tehnologija, jedina je prilika da se uz poljoprivredu počne intenzivnije baviti različitim novim djelatnostima zasnovanim na zatečenim resursima. Ti resursi mogu biti čist okoliš, prekrasni krajolici, mnoštvo kulturno-povijesnih spomenika i lokaliteta, tradicionalni obrti, vještine i način života, kultura tradicionalnih jela i pića, bogatstvo lokalnih običaja, govora itd (Čavrak, 2003.). Radi se o nizu komplementarnih djelatnosti poput seoskog i izletničkog turizma, spomeničkog i povijesnog turizma, izrade raznih tradicijskih predmeta, prezentacije tradicionalnih običaja i slično. Dinamiziranjem ovih djelatnosti amortizirale bi se transformacijske teškoće poljoprivrede i znatno povećale gospodarske i životne šanse ruralnog stanovništva što bi imalo i mnogo drugih povoljnih učinaka, osobito u smislu jačanja policentričnog razvoja, vezanja stanovništva za ruralni prostor, odnosno veću koheziju prostora te rasterećenje pritiska na urbane prostore.

Činjenica je da se u novije vrijeme povećava zanimanje ljudi za samoniklim jestivim biljkama s obzirom na sve veću zagađenost okoliša. Sve više ljudi se orijentira prema zdravom načinu prehrane, a u prirodnom se okolišu može pronaći puno biljaka koje se mogu konzumirati. Ono što je bitno je da biljke u slobodnoj prirodi rastu bez intervencije čovjeka što znači da nisu tretirane mineralnim gnojivima i pesticidima, također nakon berbe nisu prerađivane i nisu im dodavani aditivi i konzervansi (Grlić, 1990.). Samoniklo bilje se razvija u, za njega optimalnim uvjetima zbog čega su takve vrste otpornije, manje ugrožene od nametnika, a plodovi su im često bogatiji bioaktivnim sastojcima. U njima, u pravilu, ima više vitamina, minerala i enzima. Mratinić i Kojić (1998.) navode da se samonikle voćne

vrste mogu koristiti u oplemenjivanju voćaka, da imaju veliku hranjivu vrijednost i ekonomski značaj, da se mogu koristiti kao biomeliorativne vrste, ali i kao pčelinja paša. Ove uloge upućuju na veliki značaj samoniklih voćnih vrsta i za održivu poljoprivrednu proizvodnju. Srpak i Zeman (2018.) navode da je osnovni cilj održive poljoprivrede optimizirati zdravlje i produktivnost međusobno ovisnih zajednica živih organizama tla, biljaka, životinja i ljudi, nastojati smanjiti onečišćenje okoliša i prirode, stvoriti socijalne i gospodarske odnose te novi odnos čovjek – priroda. Mratinić i Fotirić-Akšić (2014.) navode da uključivanje samoniklih voćnih vrsta u komercijalni uzgoj može biti korisno iz više razloga: diverzifikacija poljoprivrede u regiji, razvoj novih tipova poljoprivrednih proizvoda i njihova raznovrsnija ponuda na lokalnim tržištima, uvođenje nove sirovine u prehrambenu industriju, novi izvori prihoda za lokalne proizvođače i obiteljska gospodarstva kao i očuvanje agrobioraznolikosti. Republika Hrvatska obiluje autohtonim sortama i populacijama mnogih vrsta voćaka, zahvaljujući raznolikosti svojih edafskih, klimatskih i geomorfoloških uvjeta, a to ogromno bogatstvo i prirodni resurs ni izdaleka nije vrednovano, istraženo i upotrebjeno sa svrhom gospodarskog boljitka i prepoznavanja važnosti (Jemrić, 2016.). Istraživanja samoniklih voćnih vrsta u tu svrhu nisu dostatna, a od bitnijih istraživanja može se istaknuti istraživanja rasprostranjenosti i kakvoće plodova samoniklih voćnih vrsta u Hrvatskoj i to na području Parka prirode Žumberak-Samoborsko gorje, Parka prirode Medvednica i Nacionalnog parka Sjeverni Velebit (Duralija i sur., 2008.). Cilj ovog rada je utvrditi koje se samonikle voćne vrste nalaze u Požeškoj kotlini te kako mogu biti korištene u održivom razvoju ruralnih područja tog kraja.

### Materijal i metode

Praćenje rasprostranjenosti i determiniranje vrsta izvršeno je u sklopu istraživanja biljnih vrsta Požeške kotline tijekom vegetacijskih sezona 2006-2008; 2011-2012 te 2019-2020 godine. Vrste zabilježene u istraživanjima te one koje su zabilježene za Požešku kotlinu Tomašević (2016.) uspoređene su s dostupnim popisima samoniklih voćnih vrsta Mratinić i Kojić (1998.) i Mratinić i sur. (2006.). Za obradu i determinaciju biljnih vrsta korištena je floristička literatura Domac (1994.) i Jávorka i Csapody (1975.). Nomenklatura vrsta i porodica, raspodjela životnih oblika te flornih elemenata izvršena je prema Tomašević (2016.). Vrste su svrstane prema pripadnosti porodicama i rodovima te im je određen životni oblik i florni element.

### Rezultati i rasprava

U Požeškoj kotlini je zabilježeno 1654 biljnih vrsta (Tomašević, 2016.). Analizom vrsta utvrđeno je da se na području Požeške kotline nalazi 75 samoniklih voćnih vrsta (4,53 % od ukupnog broja). One su razvrstane u 12 porodica i 23 rodova. Najvećom brojnošću samoniklih voćnih vrsta izdvaja se porodica Rosaceae s 43 vrste (57,3 % od ukupnog broja). U ovoj porodici najznačajniji su rodovi *Prunus* sa 12 vrsta, *Rosa* sa 9 vrsta i *Rubus* sa 8 vrsta (Tablica 1.).

Tablica 1. Porodice i rodovi s brojem vrsta samoniklih voćnih vrsta na području Požeške kotline

Porodica	Rod	Broj vrsta
Berberidaceae	<i>Mahonia</i>	1
Cornaceae	<i>Cornus</i>	4
Rosaceae	<i>Cotoneaster</i>	2
	<i>Crataegus</i>	2
	<i>Fragaria</i>	2
	<i>Malus</i>	2

	<i>Pyrus</i>	2
	<i>Prunus</i>	12
	<i>Rosa</i>	9
	<i>Rubus</i>	8
	<i>Sorbus</i>	4
Corylaceae	<i>Corilus</i>	1
Rhamnaceae	<i>Frangula</i>	2
	<i>Rhamnus</i>	1
Juglandaceae	<i>Juglans</i>	2
Cupressaceae	<i>Juniperus</i>	3
Caprifoliaceae	<i>Lonicera</i>	5
	<i>Sambucus</i>	3
	<i>Viburnum</i>	3
Grossulariaceae	<i>Ribes</i>	3
Ericaceae	<i>Vaccinium</i>	1
Vitaceae	<i>Vitis</i>	2
Fagaceae	<i>Castanea</i>	1

Od životnih oblika najzastupljeniji su fanerofiti sa 71 vrstom (94,7%). Od ostalih životnih oblika zastupljeni su još samo hemikriptofiti sa 4 vrste (5,3%). (tablica 2.)

Tablica 2. Broj vrsta samoniklih voćaka obzirom na životne oblike na području Požeške kotline

Phanerophyta (P)	Hemicryptophyta (H)	Chamaephyta (Ch)	Geophyta (G)	Therophyta (T)	Hydrophyta (Hy)
71	4	0	0	0	0

Prema flornim elementima najzastupljenije su kultivirane i adventivne biljke sa 23 vrste (30,7%) nakon čega slijede vrste euroazijskog flornog elementa (15 vrsta ili 20%) te europskog flornog elementa (10 vrsta ili 13,3%). (tablica 3.)

Tablica 3. Pripadnost samoniklih voćnih vrsta flornim elementima na području Požeške kotline

Florni element	Broj vrsta	%
1. Mediteranski	2	2,67
2. Ilirsko-balkanski	1	1,33
3. Južnoeuropski	9	12,0
4. Atlantski	-	-
5. Istočnoeuropsko-pontski	-	-
6. Jugoistočno-europski	-	-
7. Srednjoeuropski	6	8,00
8. Europski	10	13,3
9. Panonski	-	-
10. Euroazijski	15	20,0
11. Biljke cirkumholartičke rasprostranjenosti	4	5,33
12. Biljke široke rasprostranjenosti	5	6,67
13. Kultivirane i adventivne	23	30,67
<b>Ukupno</b>	<b>75</b>	<b>100</b>

Mratinić i Fotirić-Akšić (2014.) navode da se sa intenziviranjem voćarske proizvodnje sve više pojavljuje problem osjetljivosti sorti prema bolestima i štetočinjama, povećava se upotreba zaštitnih sredstava i mineralnih gnojiva zbog postizanja visoke produktivnosti što

u konačnici dovodi do smanjenja biološke vrijednosti uzgajanog voća. Iz tog razloga kao jedna od metoda poboljšanja hranjive vrijednosti voća je domestifikacija tj. uvođenje u kulturu samoniklih voćnih vrsta.

Obzirom na veliki broj samoniklih voćnih vrsta u Požeškoj kotlini za dobivanje visokokvalitetnih plodova mogle bi se koristiti npr. *Cornus mas* L., *Fragaria vesca* L., *Malus pumila* Mill., *Pyrus pyraeaster* Burgsd., *Prunus cerasifera* Ehrh., *Prunus spinosa* L., *Rosa canina* L., *Sorbus aria* (L.) Crantz, *Sorbus aucuparia* L., *Sambucus nigra* L., *Sambucus racemosa* L., *Castanea sativa* Miller.

Od navedenih vrsta određeni broj bi se mogao koristiti za pošumljavanje i sprečavanje erozije: *Cornus* sp., *Cotoneaster integerrimus* L., *Corylus avellana* L., *Juglans regia* L., *Juniperus* sp., *Sambucus nigra* L., *Sambucus racemosa* L.

Kao sirovina za drvenu industriju mogli bi se koristiti *Prunus avium* L., *Juglans regia* L., *Castanea sativa* Miller.

Većina nabrojanih samoniklih voćnih vrsta imaju vrlo lijep habitus krošnje te bi se mogle koristiti kao dekorativne vrste npr. *Cornus* sp., *Cotoneaster integerrimus* Medik., *Crataegus monogyna* Jacq., *Prunus laurocerasus* L., *Prunus padus* L., *Rosa* sp., *Sorbus aria* (L.), *Sorbus aucuparia* L., *Sambucus nigra* L., *Viburnum lantana* L., *Viburnum opulus* L., *Viburnum opulus* L. var. *roseum* L.

Osim navedenih uloga samonikle voćne vrste su zbog cvjetova koji obiluju nektarom značajna pčelinja paša. Kao medonosne vrste mogu se navesti: *Cornus mas* L., *Malus sylvestris* Mill., *Pyrus communis* L., *Prunus avium* L., *Prunus cerasifera* Ehrh., *Prunus cerasifera* Ehrh. var. *pissardi* Bailey, *Prunus padus* L., *Prunus spinosa* L., *Rosa* sp., *Rubus* sp., *Sorbus aucuparia* L., *Corylus avellana* L., *Sambucus nigra* L., *Sambucus racemosa* L., *Ribes* sp., *Vaccinium* sp., *Castanea sativa* Miller

Samonikle voćne vrste imaju genetski potencijal koji je značajan za selekcioniranje i oplemenjivanje kultiviranih voćnih vrsta, mogu služiti za proizvodnju podloga, a vrlo su značajne i za ljudsku prehranu.

Za proizvođače na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima značajno može biti sakupljanje plodova samoniklog voća obzirom na njihovu nezagađenost, a to ujedno može biti značajan dopunski ili sezonski izvor prihoda za stanovništvo ruralnih sredina. Takvi plodovi mogu se prerađivati u kompote, žele, marmelade, đemove i dr. ili sušiti i od njih praviti čajevi. Mratinić i Kojić (1998.) navode da se za potrebe farmaceutske industrije mogu sakupljati pupoljci ruža, listovi kupine, maline, šumskih jagoda, cvjetovi ruža, bazge, peteljke višnje, trešnje, kora kestena i drugo.

## Zaključak

U novije vrijeme sve više prevladava shvaćanje da je za čovjeka najbolji način poljoprivredne proizvodnje održiva poljoprivreda. U održivoj poljoprivredi značajno mjesto mogla bi zauzimati upotreba samoniklih voćnih vrsta i njihovih plodova. Obzirom na veliki broj biljnih vrsta u Požeškoj kotlini (ukupno 1654) značajno mjesto u održivoj poljoprivredi trebalo bi zauzimati i samoniklo voće (4,53 % od ukupnog broja). U prilog tomu govori i činjenica da postoji minimalno 75 vrsta samoniklog voća koje bi se na razne načine moglo koristiti u održivoj poljoprivredi. One su raspoređene u 12 porodica i 23 rodova. Od životnih oblika najzastupljeniji su fanerofiti sa 71 vrstom (94,7 %) vrsta, a prema florinim elementima

najzastupljenije su kultivirane i adventivne biljke sa 23 vrste (30,7 %). Koristi od samoniklog voća mogu biti višestruke, a najbitnije su korištenje plodova za hranu, za pošumljavanje i sprečavanje erozije, upotreba za dekorativne svrhe, kao pčelinja paša, a imaju i genetski potencijal koji je značajan za selekcioniranje i oplemenjivanje voćnih vrsta u uzgoju.

## Literatura

- Čavrak V. (2003). Održivi razvoj ruralnih područja Hrvatske. Objavljeno u Zbornik Ekonomskog fakulteta u Zagrebu. Vol.1.No1. 61-77. Raspoloživo <https://hrcak.srce.hr/26171>
- Domac R. (1994). Flora Hrvatske, Školska knjiga, Zagreb
- Duralija B., Dujmović Purgar D., Vokurka A., Voća S., Šindrak Z. (2008). Potencijali i budućnost samoniklog voća u Hrvatskoj. Objavljeno u *43<sup>rd</sup> Croatian and 3<sup>rd</sup> International Symposium on Agriculture*. Book of Abstract. 311, Raspoloživo [http://sa.agr.hr/2008/abstracts\\_09.html](http://sa.agr.hr/2008/abstracts_09.html)
- Grlić Lj. (1990). Samoniklo jestivo bilje August Cesarec, Zagreb. 12-13. HMRR, Odraž (2010) Priručnik za provedbu pristupa LEADER u Hrvatskoj. Zagreb:Odraž
- Jávorka S., Csapody V. (1975). Iconographia florae partis austro – orientalis Europae Centralis. Akadémiai Kiadó, Budapest
- Jemrić T. (2016). Autohtone sorte i populacije voćaka kao nacionalno bogatstvo Republike Hrvatske. Objavljeno u *Hrvatska prirodna bogatstva*. Neidhardt, V (ur.) 103-110. Zagreb. Hrvatska. HAZU
- Mratinić E., Fotirić-Akšić M. (2014). Samonikle voćke kao značajan resurs u održivom razvoju. Glasnik šumarskog fakulteta. (suppl.):181-194.Raspoloživo: <http://www.doiserbia.nb.rs/issue.aspx?issueid=2297>
- Mratinić E., Kojić M. (1998). Samonikle vrste voćaka Srbije, Beograd. Srbija, Institut za istraživanja u poljoprivredi..
- Mratinić E., Miranović K., Kojić M. (2006). Samonikle vrste voćaka Crne Gore Poljoprivredni fakultet, Beograd
- Srpak M., Zeman S. (2018). Održiva ekološka poljoprivreda. Objavljeno u Zbornik radova Međimurskog veleučilišta u Čakovcu, vol 9. No.2. 668-675
- Tomašević M. (2016). Flora Požeške kotline i slavonskog gorja. HAZU, Zagreb

## The importance of wild fruit species in the sustainable development of rural areas of the Požega valley

### Abstract

About 91,6% of the area and over 47,6% of the population belong to the rural area of Croatia. The aim of this paper is to determine which wild fruit species are found in the Požega valley and how they can be used in the sustainable development of rural areas of the region. The analysis of species determined 75 wild fruit species that are represented in 12 families and 23 genera. The *Rosaceae* family stands out with the largest number of wild fruit species. Of the life forms, the most common are phanerophytes, and according to the floral elements, cultivated and adventitious plants. Given the large number of wild fruit species in the Požega valley, they could be used to obtain high quality fruit, for afforestation and erosion prevention, as an ornamental species, as a significant bee pasture, and can be significant in collecting wild fruit.

**Key words:** wild fruit, Požega valley, sustainable development, rural areas





**Poljoprivredna  
tehnika**

**09**

**Agricultural  
Technics**





## Utjecaj različitih agrotehničkih mjera na produktivnost trave miskantus

Nikola Bilandžija, Katarina Gudeljić, Neven Voća, Mislav Kontek, Josip Lakić, Josip Leto  
Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska,  
(nbilandzija@agr.hr)

### Sažetak

Cilj rada je utvrditi postoji li utjecaj različitih agrotehničkih mjera (rok žetve, vrsta sadnog materijala i tretmani pepelom) na produktivnost (prinos suhe tvari, visinu biljke i broj izboja) energetske biljke miskantus. Rezultati istraživanja pokazali su da najveći utjecaj na prinos biomase miskantusa ima vrijeme žetve. U jesenskoj žetvi postignuti su veći prinosi, koji su u prosjeku iznosili 34,0 t ha<sup>-1</sup> ST, dok su u proljetnoj žetvi zabilježen prinos od 21,0 t ha<sup>-1</sup> ST.

**Ključne riječi:** *Miscanthus x giganteus*, biomasa, žetva, sadni materijal, pepeo

### Uvod

Miskantus je biljka kod koje ukupan prinos suhe tvari najčešće iznosi 10 – 25 t ha<sup>-1</sup>. Međutim, na njegovu produktivnost mogu utjecati brojni čimbenici, poput agroekoloških uvjeta lokacije uzgoja, mogućnosti navodnjavanja, starosti nasada, sadnog materijala i korištenja hranjiva (Brosse i sur., 2012.). Komercijalno dostupni sadni materijali koji se mogu koristiti za zasnivanje nasada miskantusa su reznice rizoma dobiveni mehaničkim putem te presadnice dobivene mikropropagacijom. Sadnja se najčešće provodi između ožujka i svibnja, uz sklop od 10 000 – 15 000 biljaka ha<sup>-1</sup> (Caslin i sur., 2010.; Bilandžija, 2015.). Žetva miskantusa u kasnu zimu ili rano proljeće tradicionalno se provodi za toplinske i industrijske svrhe, dok jesenska žetva ima veći potencijal u proizvodnji bioplina i bioetanolu (Ruf i sur., 2017.). Pri izgaranju svake biomase, pa tako i miskantusa nastaje pepeo, koji se može koristiti kao poboljšivač tla u poljoprivrednoj proizvodnji. Recikliranjem pepela u tlo se smanjuje primjena komercijalnih gnojiva te se rješava problem njegovog zbrinjavanja (Perucci i sur., 2006.). U svijetu se sve više povećava broj elektrana na biomasu u kojima se stvara velika količina pepela, a problem nastaje prilikom njegovog zbrinjavanja (Zajac i sur., 2018.). Cilj rada je utvrditi postoji li utjecaj različitih agrotehničkih mjera (rok žetve, vrsta sadnog materijala i tretmani pepelom) na produktivnost (prinos suhe tvari, visinu biljke i broj izboja) energetske biljke miskantus.

### Materijali i metode

Nasad miskantusa posađen je 2016. godine na Pokušalištu Agronomskog fakulteta u Šašinovcu. Pokus je postavljen u proljeće 2019. godine po shemi split-split-plot (3 x 3 x 2) u 3 ponavljanja. Osnovna parcelica kod rizoma bila je površine 4 x 10 m = 40 m<sup>2</sup>, dok je kod presadnica površina iznosila 2,4 x 10 m = 24 m<sup>2</sup>. Jedan blok su činile tri razine pepela: (I) 0 t/ha – P0; (II) 2 t/ha – P2 (III); 5 t/ha – P5. Pepeo s dna peći dobiven je iz biopostrojenja Lika Energo Eko d.o.o. iz Udbine. Količine teških metala u analiziranom pepelu bile su ispod maksimalno dopuštenih količina (MDK) prema Pravilniku o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 71/2019). Sadni materijal je također podijeljen u tri skupine: (I) Rizomi podrijetlom iz Hrvatske, (II) Rizomi podrijetlom iz Engleske i (III) Presadnice proizvedene u Poljskoj. Prinosi biomase utvrđivani su u jesen (studeni, 2019.) i proljeće (ožujak, 2020.), žetvom obračunske parcelice. Nakon vaganja pokošene mase, uzimanjem

poduzorka od približno 1 kg sasjeckane mase, sušenjem 48 h na 60 °C do konstantne mase te ponovnim vaganjem i preračunavanjem u t/ha dobiven je prinos suhe tvari. Visina biljaka i broj izboja utvrđivani su u jesen 2019., na 10 slučajno odabranih mjesta po osnovnoj parceli. Visina biljke mjerena je od razine tla do vrha metlice, a broj izboja je utvrđen prebrojavanjem stabljika na površini od 1 m<sup>2</sup>. Za statističke analize korišten je računalni paket R (R Development Core Team, 2008.), sučelje RStudio (RStudio, Inc., 2018.) te pridodani programski paketi "multcomp", "MASS" i "pwr". Razlike između aritmetičkih sredina pojedinih svojstava, za faktore i njihove interakcije gdje se njihov utjecaj pokazao signifikantnim, testirane su t-testom uz Bonferronijevu korekciju. Početni prag signifikantnosti bio je 5 % (0.05).

## Rezultati i rasprava

### Visina biljke i broj izboja

Visina biljke uz broj izboja predstavlja sastavnice prinosa miskantusa te zajedno čine ukupan prinos suhe tvar. U Tablici 1. prikazane su razlike u visini biljke i broja izboja u odnosu na sadni materijal i količinu tretmana pepela.

Tablica 1. Visine i broja izboja miskantusa u odnosu na sadni materijal i količinu pepela

Parametar	Visina miskantusa (m)
Rizomi Hrvatska	3,27 <sup>b</sup> ± 0,11
Rizomi Engleska	2,83 <sup>a</sup> ± 0,16
Presadnice Poljska	3,20 <sup>b</sup> ± 0,31
Signifikantnost	***
P <sub>0</sub>	3,12 <sup>ab</sup> ± 0,25
P <sub>1</sub>	2,96 <sup>a</sup> ± 0,18
P <sub>2</sub>	3,21 <sup>b</sup> ± 0,21
Signifikantnost	*
Parametar	Broj izboja/biljci
Rizomi Hrvatska	62,44 <sup>a</sup> ± 12,74
Rizomi Engleska	89,25 <sup>b</sup> ± 10,58
Presadnice Poljska	60,81 <sup>a</sup> ± 12,32
Signifikantnost	***

P<sub>0</sub> - 0 t pepela ha<sup>-1</sup>; P<sub>1</sub> - 2 t pepela ha<sup>-1</sup>; P<sub>2</sub> - 5 t pepela ha<sup>-1</sup>

<sup>a, b, c</sup> Različita mala slova ukazuju na signifikantne razlike između istraživanih parametara

Provedena analiza pokazuje statistički značajan utjecaj faktora vrsta sadnog materijala (P<0,001) i tretmana pepelom (P<0,05) na visinu izboja miskantusa. Utjecaj međusobne interakcije promatranih faktora nije zamijećen. Obzirom na broj izboja statistički značajan utjecaj pokazuje vrsta sadnog materijala (P<0,001), dok utjecaj tretmana pepelom te međusobne interakcije promatranih faktora nije zamijećen. Temeljem rezultata u tablici 1. vidi se da je visina rizoma iz Engleske (2,83 m) značajno niža u odnosu na rizome iz Hrvatske (3,27 m) i presadnice iz Poljske (3,20 m). Najmanja prosječna visina izboja utvrđena je kod primjene 2 t ha<sup>-1</sup> pepela, ali se statistički ne razlikuje značajno od prosječne visine biljaka utvrđene kod kontrolnog tretmana (0 t ha<sup>-1</sup> pepela). Prosječno najviše biljke su utvrđene kod primjene 5 t ha<sup>-1</sup> pepela te je vidljiva statistički značajna razlika u odnosu na aplikaciju 2 t ha<sup>-1</sup> pepela. Usporedno s dobivenim rezultatima, Bilandžija i sur. (2018.) u svojim istraživanju na četverogodišnjem usjevu miskantusa bilježe nešto veću visinu izboja, koja je u prosjeku iznosila 3,57 m. Najmanju visinu biljke u iznosu od 3,45 m autori bilježe pri kontrolnoj gnojidbi (0 kg ha<sup>-1</sup> N), a najveću (3,63 m) pri gnojidbi sa 100 kg ha<sup>-1</sup> N.

Christian i sur. (2008.) na sadnicama miskantusa proizvedenim mikropropagacijom, tijekom desete godine uzgoja utvrđuju prosječnu visinu u iznosu od 3,52 m. Xue i sur (2017.) u četvrtoj godini uzgoja, kod miskantusa koji je razmnožen *in vitro* navode nižu visinu stabljike (1,80 m), u odnosu na genotipove koji su bili razmnoženi rizomima ( $> 2,00$  m). Borkowska i Molas (2013.) na četverogodišnjem usjevu miskantusa razmnoženog rizomima utvrđuju prosječnu visinu od 2,56 m. Obzirom na broj izboja vidljivo je kako se rizomi iz Engleske (89,3 izboja) signifikantno razlikuju te je utvrđen veći broj izboja u odnosu na rizome iz Hrvatske (62,4 izboja) i presadnice iz Poljske (60,8 izboja). Lewandowski (1998.) navodi kako biljke razmnožavane rizomima formiraju manji broj izboja, u odnosu na biljke razmnožene mikropropagacijom, što nije bio slučaj u ovom istraživanju. Bilandžija i sur. (2018.) u usporedbi s prikazanim rezultatima u ovome istraživanju, u četvrtoj godini uzgoja miskantusa navode manji broj izboja, odnosno u prosjeku 53,2 izboja po  $m^2$ . Borkowska i Molas (2013.) kod miskantusa razmnoženog rizomima utvrđuju prosječni broj izboja od 55,3 po  $m^2$ .

#### Prinos suhe tvari

U Tablici 2. prikazane su razlike u prinosu suhe tvari biomase miskantusa u odnosu na provedene rokove žetve i korištene sadne materijale.

Tablica 2. Prinos biomasa u odnosu na rok žetve i sadni materijal

Parametar	Prinos biomase (t ST ha <sup>-1</sup> )
Žetva jesen	34,01 <sup>a</sup> ± 10,71
Žetva proljeće	21,02 <sup>b</sup> ± 5,63
Signifikantnost	***
Rizomi Hrvatska	26,85 <sup>ab</sup> ± 8,61
Rizomi Engleska	32,28 <sup>b</sup> ± 12,24
Presadnice Poljska	23,43 <sup>a</sup> ± 9,40
Signifikantnost	**

<sup>a, b, c</sup> Različuta mala slova ukazuju na signifikantne razlike između istraživanih parametara

Rezultati statističke analize pokazuju značajan utjecaj vremena žetve ( $P < 0,001$ ) te vrste sadnog materijala ( $P < 0,01$ ) na prinos biomase miskantusa. Tretman pepelom kao i međusobna interakcija istraživanih faktora ne pokazuje značajne razlike. Navedeni rezultat ukazuje da prinos biomase miskantusa ovisi prvenstveno o vremenu žetve te zatim o sadnom materijalu. Iz rezultata prikazanih u tablici 2. vidljivo je kako je prosječan prinos biomase u jesenskom roku žetve iznosio 34,0 t ha<sup>-1</sup> ST, dok je u proljetnom roku žetve utvrđen prinos od 21,0 t ha<sup>-1</sup> ST. Temeljem navedenog može se zaključiti da je odgađanje žetve s jeseni na proljeće rezultiralo gubitkom prinosa biomase od 38,2 %, što je posljedica sušenja usjeva, kao i opadanja lišća i metlica. Obzirom na sadni materijal, vidljivo je kako je najveći prosječni prinos biomase zabilježen kod rizoma iz Engleske (32,28 t ha<sup>-1</sup> ST), ali nije bio značajno veći od prinosa postignutog sadnjom rizoma iz Hrvatske (26,85 t ha<sup>-1</sup> ST). Ujedno, nije utvrđena statistički značajna razlika između prinosa kod rizoma iz Hrvatske i presadnica iz Poljske (23,43 t ha<sup>-1</sup> ST). Sadnjom rizoma iz Hrvatske zabilježen je prosječni prinos biomase u iznosu od 26,9 t ha<sup>-1</sup> ST, dok je kod presadnica iz Poljske iznosio 23,4 t ha<sup>-1</sup> ST. Zub i sur. (2011.) navode slične rezultate u svojim istraživanjima te utvrđuju prinos ST u jesenskoj žetvi od 32,5 t ha<sup>-1</sup>, u odnosu na zimsku žetvu (19,0 t ha<sup>-1</sup>), što je uzrokovalo gubitak od 42 %. Lewandowski i Kicherer, (1997.) navode prinose od 16,2 do 16,5 t ha<sup>-1</sup> ST kod nasada oformljenog korištenjem presadnica, dok je korištenjem rizoma ostvaren prinos od 12,7 do 14,4 t ha<sup>-1</sup> ST.

## Zaključak

Na visinu miskantusa statistički opravdan utjecaj pokazala je vrsta sadnog materijala kao i tretmani pepelom, dok je na broj izboja statistički opravdan utjecaj pokazala vrsta sadnog materijala. Na prinos biomase miskantusa najveći utjecaj je imalo vrijeme žetve, ali u manjoj mjeri prinos je ovisio i o sadnom materijalu. Aplikacija pepela nije pokazala utjecaj na produktivnost biomase.

## Zahvala

Ovo istraživanje financirao je Europski fond za regionalni razvoj putem K.K.01.1.1.04.0091 projekta "Dizajn naprednih biokompozita iz energetski održivih izvora – BIOKOMPOZITI" i Hrvatska zaklada za znanost, u okviru projekta br. IP-2018-01-7472, "Zbrinjavanje mulja kroz proizvodnju energetskih kultura".

## Literatura

- Bilandžija N. (2015). Potencijal vrste *Miscanthus x giganteus* kao energetske kulture u različitim tehnološkim i agroekološkim uvjetima. Doktorski rad. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.
- Bilandžija N., Voća N., Leto J., Jurišić, V., Grubor M., Matin, A., Geršić A., Krička, T. (2018). Yield and Biomass Composition of *Miscanthus x Giganteus* in the Mountain Area of Croatia. *Transactions of FAMENA*. 42 (SI-1), 51-60.
- Borkowska H. i Molas R. (2013). Yield comparison of four lignocellulosic perennial energy crop species. *Biomass and Bioenergy*. 51, 145-153.
- Brosse N., Dufour A., Meng X., Sun Q., Ragauskas A. (2012). *Miscanthus*: a fast-growing crop for biofuels and chemicals production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 6(5), 580-598.
- Caslin B., Finnan J., McCracken A. (2010). *Miscanthus Best Practices Guidelines*. Teagasc and the Agri-Food and Bioscience Institute.
- Christian D. G., Riche A. B., Yates N. E. (2008). Growth, yield and mineral content of *Miscanthus x giganteus* grown as a biofuel for 14 successive harvests. *Industrial crops and products*. 28(3), 320-327.
- Lewandowski I. (1998). Propagation method as an important factor in the growth and development of *Miscanthus x giganteus*. *Industrial Crops and Products*. 8(3), 229-245.
- Lewandowski I. i Kicherer A. (1997). Combustion quality of biomass: practical relevance and experiments to modify the biomass quality of *Miscanthus x giganteus*. *European Journal of Agronomy*. 6(3-4), 163-177.
- Piero Perucci, Elga Monaci, Cristiano Casucci, Costantino Vischetti (2006). Effect of recycling wood ash on microbiological and biochemical properties of soils. *Agronomy for Sustainable Development*. 26(3), 157-165.
- Ruf T., Schmidt A., Delfosse P., Emmerling C. (2017). Harvest date of *Miscanthus x giganteus* affects nutrient cycling, biomass development and soil quality. *Biomass and Bioenergy*. 100, 62-73.
- Xue S., Lewandowski I., Kalinina O. (2017). *Miscanthus* establishment and management on permanent grassland in southwest Germany. *Industrial Crops and Products*. 108, 572-582.
- Zajac G., Szyszlak-Bargłowicz J., Gołębiowski W. i Szczepanik M. (2018). Chemical characteristics of biomass ashes. *Energies*. 11(11), 2885.
- Zub H. W., Arnoult, S., Brancourt-Hulmel M. (2011). Key traits for biomass production identified in different *Miscanthus* species at two harvest dates. *Biomass and Bioenergy*. 35(1), 637-651.

## **The influence of different agrotechnical measures on *Miscanthus* grass productivity**

### **Summary**

This study aims to determine if there has been an impact of different agrotechnical measures (harvest date, type of planting material and ash treatments) on productivity (dry matter yield, plant height, and number of shoots) of miscanthus energy plant. The results of the research showed that the greatest influence on the biomass yield of miscanthus has the time of harvest. In the autumn harvest, higher yields were achieved, which averaged 34,0 t ha<sup>-1</sup> of dry matter, while in the spring harvest the average yields were 21,0 t ha<sup>-1</sup> of dry matter.

**Keywords:** *Miscanthus x giganteus*, biomass, harvest, plant material, ash

## Peletiranje i briketiranje energetskih kultura

Mateja Grubor, Nikola Bilandžija, Tajana Krička

*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska  
(mgrubor@agr.hr)*

### Sažetak

Sve je veća potreba za razvojem tehnologija koje bi zamjenjivale upotrebu fosilnih goriva obnovljivim izvorima energije na ekonomski i ekološki održiv način. Peletiranjem i briketiranjem biomase može se u određenoj mjeri eliminirati niz loših karakteristika biomase kao goriva pri izravnom izgaranju. Tehnologija peletiranja i briketiranja biomase zahtijeva njezinu prethodnu odgovarajuću pripremu u smislu fizikalnog i kemijskog sastava smjese peleta ili briketa kako bi se udovoljili i zahtijevajući standardi. Temeljem navedenog, u radu je predstavljena mogućnost peletiranja i briketiranja energetskih kultura s obzirom na trend porasta korištenja biomase kao zamjenu za fosilno gorivo.

**Ključne riječi:** peleti, briketi, fizikalna svojstva, kemijska svojstva

### Uvod

Unatoč brojnim prednostima u eksploataciji biomase kao izvora energije, njezino korištenje povezano je s određenim nedostacima, od kojih bi se mogli navesti: periodičnost biomase, disperzija, otežano prikupljanje, pakiranje i skladištenje, uslijed male gustoće, smanjene topline po jedinici volumena, nepovoljan oblik i visok sadržaj vlage, a investicijski troškovi za izgradnju postrojenja za izgaranje biomase veći su od onih za izgaranje konvencionalnih izvora energije (Krička i sur., 2012.; Janić i Janić, 2017.). Navedeni problemi mogu se u velikoj mjeri izbjeći ili smanjiti utjecaj ako se biomasa komprimira u obliku peleta i briketa.

Proizvodnja peleta i briketa iz biomase energetski je i ekonomski zahtjevna, međutim, popularnost njihove uporabe uvelike se povećala posljednjih godina što pokazuje značajne prednosti ovih goriva. Ti se oblici goriva smatraju gorivima budućnosti zbog niskog udjela vlage, visoke ogrjevne vrijednosti, niskog udjela pepela, jednostavnog rukovanja i utjecaja na okoliš (Ivanova i sur., 2014.). Uz to, peletiranje i briketiranje poboljšavaju karakteristike biomase za rukovanje, transport, skladištenje i izgaranje (Plištil i sur., 2005.). Zbog gore spomenutih kvaliteta, peleti i briketi za gorivo su visoko konkurentni u usporedbi s ostalim gorivima, a njihovo tržište brzo se širi (Ivanova i sur., 2014.).

Rastuća potražnja za potrošnjom drvenih peleta i briketa, zajedno s rastućim ekološkim problemima, potiču okretanje proizvodnji peleta i briketa iz nedrvne biomase. Nedrvna biomasa poput poljoprivrednih ostataka te posebno energetskih kultura ima velik energetski potencijal i može se preferirati kao održivi, obnovljivi izvor energije. Poljoprivredne energetske kulture su one kulture koje se uzgajaju isključivo u svrhu proizvodnje velikih količina biomase po jedinici površine, najznačajnije su brzorastuće energetske kulture i to miskantus, divlji proso, divovska trava, blještac te virdžinijski sljez (Bilandžija i sur., 2017.).

Međutim, potrebno je istražiti tehničke izazove kako bi se znalo postupati s različitim sirovinama biomase. Glavni tehnički izazovi su neujednačena morfološka struktura sirovina iz biomase, modificiranje procesne linije, niži sadržaj lignina i niska nasipna gustoća u usporedbi s ostalim krutim gorivima (Pradhan i sur., 2018.).

U ovom preglednom radu ukratko je predstavljena mogućnost peletiranja i briketiranja energetskih kultura, uzimajući u obzir trend porasta korištenja biomase kao obnovljivog izvora energije.

### Peletiranje

Tehnologija peletiranja biomase zahtijeva njezinu prethodnu odgovarajuću pripremu u smislu finoće, sadržaja vlage i sastava smjese za peletiranje (Thek i Obenberger i, 2012.). Peletiranje povećava specifičnu gustoću biomase na više od  $1000 \text{ kg/m}^3$  (Mani i sur., 2004.). Peleti su cilindrični, promjera 6-8 mm i dugi 10-20 mm.

Postupci peletiranja sastoje se od tri glavne jedinice, sušenja, smanjenja veličine (mljevenje) i zgušnjavanja (peletiranje). Biomasa se suši na oko 10% relativne vlage u rotacijskoj sušari (Stáhl i sur., 2004.). Nakon sušenja mlinom čekićarem s veličinom sita od 3-6 mm smanjuje se osušenu biomasu na veličinu čestica prikladnu za peletiranje. Mljevena biomasa zbija se u mlincu za prešanje kako bi nastala peleta. Pojedinačna gustoća peleta kreće se od 1000 do  $1200 \text{ kg/m}^3$ . Nasipna gustoća peleta kreće se od 550 do  $700 \text{ kg/m}^3$ , ovisno o veličini peleta (Carroll i Finnan, 2012.).

Prilagođavanjem tehnologije peletiranja, usitnjenih energetskih kultura, kako bi se proizveli energetski peleti u obliku odgovarajućeg oblika, dimenzija peleta i sadržaja vlage, moguće je proizvesti homogeno biogorivo. Najvažniji strukturni dijelovi preše za peletiranje biomase energetskih kultura su matrica s tlačnim valjcima za prešanje biomase. Dvije su osnovne i najčešće korištene vrste matrica u preši za peletiranje, i to: prstenasta i ravna matrica. Pri odabiru konstrukcije preše za peletiranje biomase, tj. koja će se matrica koristiti treba biti od velike važnosti za kemijska i fizikalna svojstva biomase, kao i sastav biomase za peletiranje. Pri odabiru matrica, jedan od najvažnijih kriterija može biti činjenica da se matrice s prstenom bolje koriste za sirovine čija je nasipna gustoća iznad  $500 \text{ kg/m}^3$  (npr. prešanje tvrdih drvnih sirovina), a ravne matrice treba koristiti kod sirovina gustoće manje od  $500 \text{ kg/m}^3$  (Brkić i sur., 2011.).

Na gustoću i trajnost peleta utječu fizikalna i kemijska svojstva sirovine, temperatura i primijenjeni tlak tijekom procesa peletiranja (Mani i sur., 2004.). U nekim se postupcima mljeveni materijal obrađuje pregrijanom parom na temperaturama iznad  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  prije zbijanja. Pregrijana para povećava vlagu i temperaturu smjese uzrokujući oslobađanje i aktiviranje prirodnih veziva prisutnih u biomasu. Vлага također djeluje kao vezivo i mazivo.

U nekim operacijama koriste se veziva ili sredstva za stabilizaciju kako bi se smanjila elastičnost peleta i povećala gustoća i trajnost peleta. Biomasa drvenastih biljaka sadrži veći postotak smola i lignina u usporedbi s energetskim kulturama. Kad se biomasa bogata ligninom zbije pod visokim tlakom i temperaturom, lignin postaje mekan pokazujući termoreaktivna svojstva (van Dam i sur., 2004.), tako omekšani lignin djeluje kao ljepilo.

Temperatura peleta koji izlaze iz mlina za pelete kreće se u rasponu od  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  do  $90 \text{ }^\circ\text{C}$ . Povišena temperatura je posljedica topline trenja koja nastaje tijekom istiskivanja i predgrijavanja materijala (Janić i Janić, 2017.). Peleti se u hladnjaku hlade na temperaturu od  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  razlike od temperature okoline. Ohlađene pelete prenose se iz hladnjaka u skladišna područja pomoću mehaničkih ili pneumatskih transportnih sustava.

Poboljšanjima u kvaliteti peleta dodavanjem veziva i smjese, razvojem dizajna kotlova i uvođenjem novih standarda, alternativni peleti od biomase energetskih kultura imaju svoju budućnost za proizvodnju topline.



## Briketiranje

Briketi se komprimiraju visokim tlakom u oblik punog cilindra ili prizme ili u tijelo sa središnjom otvorom vanjskog promjera većeg od 40 mm, ali manjeg od 100 mm (Plíštil i sur., 2004.). Briketi se proizvode prešanjem materijala odgovarajuće granuliranosti u preši za briketiranje. Tijekom briketiranja biomasa se transportira u lijevak smješten preko preše. Jedan zid lijevka vibrira kako bi se spriječilo stvaranje svoda i osiguralo pravilno punjenje korita za sabijanje mase. U prvoj fazi biomasa se prethodno sabije i potisne u prostor za prešanje pomoću dva hidraulična cilindra (Plíštil i sur., 2005.).

Prešana biomasa postupno se preša u komori za prešanje u dvije faze - brzim hodom i punom snagom glavnog cilindra u konačnom obliku briketa. Sa suprotne strane kalup za prešu zatvara noseći hidraulični cilindar. Nakon olakšanja briket ispada iz kalupa za prešanje. Konstrukcija nosećeg cilindra omogućuje dvosmjerno prešanje.

Prilikom briketiranja energetskih kultura preporučuje se dodati ugljenu prašinu zbog bolje kohezije briketa i posljedično boljih mehaničkih svojstava (Plíštil i sur., 2005.).

### Fizikalna svojstva peleta i briketa

Sadržaj vlage -biomasa je po svojoj prirodi higroskopna. Stabilne pelete i brikete mogu se formirati s rasponom vlažnosti između 8 i 12%, ovisno o vrsti biomase (Carroll i Finnan, 2012.). Povećanjem vlaga iznad navedene mogu se pojaviti problemi sa stvaranjem plijesni i razgradnjom peleta ili briketa. Peleti i briketi od biomase energetskih kultura vrlo su osjetljivi na upijanje vlage iz okolnog okoliša, pa je vrlo važno osigurati postojanje nepropusnih skladišnih prostora. Sljedeći čimbenik koji treba uzeti u obzir je ogrjevna vrijednost te što je veći sadržaj vlage, niža je ogrjevna vrijednost peleta ili briketa.

Nasipna gustoća- definira se kao masa po jedinici volumena biomase. Važna je u pogledu transporta i skladištenja. Što je veća nasipna gustoća, to je veća masa koja se može transportirati ili skladištiti u spremniku s fiksnom zapreminom, čime se minimiziraju troškovi prijevoza i skladištenja. Nasipna gustoća je funkcija gustoće i veličine peleta ili briketa (Carroll i Finnan, 2012.).

Trajnost- glavni parametar koji se koristi za opisivanje fizičke kakvoće zgusnutih čvrstih biogoriva poput peleta i briketa. Naime, oni su vrlo osjetljivi na fizičko trošenje što dovodi do stvaranja sitnih čestica ili prašine tijekom transporta i skladištenja. Prašina može predstavljati i opasnost po zdravlje i požar te uzrokovati probleme u nekim sustavima rukovanja kotlom i izgaranja. Standardna metoda Europskog odbora za standardizaciju (CEN) CEN/TS 15210-1:2005 opisuje fizičku trajnost kao sposobnost peleta ili briketa da ostane netaknuta prilikom rukovanja; tj. sposobnost da podnesu vibracije i udarce.

### Kemijska svojstva peleta i briketa

Sadržaj ugljika, vodika i kisika- to su tri glavne komponente bilo kojeg čvrstog biogoriva. Tijekom izgaranja ugljik i vodik oksidiraju tako da tvore CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>O. Što je njihov sadržaj veći, veća je gornja ogrjevna vrijednost peleta ili briketa, dok je visok sadržaj kisika smanjuje (Carroll i Finnan, 2012.).

Dušik, klor, sumpor- u teoriji, sadržaj dušika kod energetskih kultura nešto je veći od sadržaja drvene biomase zbog količina dušičnih gnojiva primijenjenih tijekom rasta usjeva. Tijekom izgaranja dušik se gotovo u cijelosti pretvara u plinoviti dušik (N<sub>2</sub>) i dušikove okside (NO<sub>x</sub>) (Oberberger i sur., 2006.). Količina N<sub>2</sub>O i dušika ugrađenih u pepeo obično

je vrlo niska u modernim kotlovima na biogoriva. Klor sadržan u biogorivima tijekom izgaranja uglavnom se pretvara u plinoviti HCl, Cl<sub>2</sub> ili alkalne kloride poput NaCl ili KCl. Kada se dimni plin ohladi, velik dio klorida kondenzira se kao sol na izmjenjivaču topline i dimnim površinama. Te kloridne soli mogu imati vrlo nagrizajuće štetno djelovanje na metalne dijelove s kojima dolaze u kontakt (Oberberger, 2003.). Sumpor se ponaša slično kloru tijekom izgaranja, pri čemu je glavni problem stvaranje alkalnih soli i njihova naknadna korozivna priroda.

**Ogrjevna vrijednost**- definira se kao specifična energija izgaranja za jediničnu masu krutog biogoriva. Ovisna je o sadržaju vlage i kemijskom sastavu biomase. Ogrjevna vrijednost je važna vrijednost pri određivanju količine energije sadržane u zadanom volumenu biomase (Carroll i Finnan, 2012.).

**Sadržaj pepela**- kod energetskih kultura obično je veći nego što je to kod šumske biomase. Poznavanje sadržaja pepela bitno je za odabir ispravnih tehnologija izgaranja i čišćenja pepela (Oberberger i sur., 2006.). Za goriva s visokim udjelom pepela ložišta nisu prikladna zbog rizika od stvaranja sloja pepela, što može dovesti do nepravilnog protoka zraka, uzrokujući nepotpuno izgaranje i povećane emisije štetnih plinova. Za ove vrste goriva prikladnije je izgaranje u rešetki ili u fluidiziranom sloju.

U Tablici 1. dat je prikaz fizikalno kemijskih svojstava peleta nastalih peletiranjem čistog miskantusa kao jedne od najznačajnijih poljoprivrednih energetskih kultura.

Tablica 1. Fizikalno kemijska svojstva peleta od čistog miskantusa (Moon i sur., 2014.)

Peletiranje (%)	Veličina			Nasipna gustoća (kg/m <sup>3</sup> )	Trajnost (%)	Sadržaj vlage (%)	
	promjer (mm)	dužina (mm)					
99,4	5,5	20,3		624	97,8	8,4	
Ugljik (%)	Vodik (%)	Dušik (%)	Kisik (%)	Sumpor (%)	Klor (%)	Pepeo (%)	HHV (MJ/kg)
44,0	5,8	0,3	50,0	0,1	0,12	2,2	16,85

HHV- gornja ogrjevna vrijednost

### Standardizacija peleta

Švedska je razvila prvi europski standard kvalitete peleta 1998. godine. Instituti za standarde u Austriji, Njemačkoj i Italiji su naknadno razvili nacionalne standarde, dok Kodeks dobre prakse postoji u Velikoj Britaniji. Tehnički odbor europskih normi formulirao je standarde za goriva iz biomase i relativno novi standard EN 14961-1:2010, koji standardizira i kvalitetu peleta proizvedenih iz biomase energetskih kultura. Većina se zemalja oslanja na ovaj tehnički standard i nisu razvile svoje vlastite nacionalne standarde. Nove europske norme (EN 14961-1:2010) specifikacije goriva daju širok spektar razina kvalitete.

Ovaj standard razlikuje različite skupine: drvnu, biljnu, voćarsku i vodenu biomasu, zajedno s njihovim kombinacijama ili smjesama. Drvna biomasa potječe od drveća, šikara i grmlja. Biljna biomasa dobiva se od biljaka koje nemaju drvenastu stabljiku i uvenu na kraju vegetacijske sezone. Voćarska biomasa odgovara biljkama sa sjemenkama. Vodena biomasa povezana je s biljkama iz vodenog okruženja. Napokon, izrazi kombinacije i smjese odnose se na materijale različitog podrijetla, koji se miješaju namjerno (kombinacije) ili ne (smjese).

## Zaključak

Peletiranjem i briketiranjem biomase energetskih kultura osigurava na prvom mjestu veća nasipna gustoća što biomasu čini praktičnijom za skladištenje i transport te se olakšava korištenje u ložištima. Veliku pozornost potrebno je staviti na fizikalna i kemijska svojstva peleta i briketa te je potrebno da peleti zadovoljavaju standard EN 14961-1:2010.

## Napomena

Ovo istraživanje financirao je Europski fond za regionalni razvoj putem K.K.01.1.1.04.0091 projekta "Dizajn naprednih biokompozita iz energetski održivih izvora – BIOKOMPOZITI".

## Literatura

- Bilandžija, N., Leto, J., Fabijanić, G., Sito, S., & Smiljanović, I. (2017). Tehnike žetve poljoprivrednih energetskih kultura. *Glasnik zaštite bilja*. 40(4), 112-119.
- Brkić M., Gluvakov Z., Janić T. (2011). Analiza procesa proizvodnje energetskih peleta od biomase. *Savremena poljoprivredna tehnika*. 37(2), 203-212.
- Carroll J.P., Finnan, J. (2012). Physical and chemical properties of pellets from energy crops and cereal straws. *Biosystems Engineering*. 112(2), 151-159.
- CEN TS 15210. (2004). Method to determine durability of biomass pellets. Brussels.
- EN 14961-1. (2010). Pellet quality standards. Brussels.
- Ivanova T., Kolarikova M., Havrland B., Passian L. (2014). Mechanical durability of briquettes made of energy crops and wood residues. *Engineering for rural development*. 13, 131-136.
- Janić T., Janić V. (2017). Tehnologija i oprema za peletiranje biomase. *Savremena poljoprivredna tehnika*. 43(2), 63-73.
- Krička T., Bilandžija N., Jurišić V., Voća N., Matin A. (2012). Energy analysis of main residual biomass in Croatia. *African Journal of Agricultural Research*. 7(48), 6383-6388.
- Mani S., Tabil L.G., Sokhansanj S. (2004). Grinding performance and physical properties of wheat and barley straws, corn stover and switchgrass. *Biomass and bioenergy*. 27(4), 339-352.
- Moon, Y.H., Yang, J., Koo, B.C., An, J.W., Cha, Y.L., Youn, Y.M., Choi, I.H. (2014). Analysis of factors affecting miscanthus pellet production and pellet quality using response surface methodology. *BioResources*. 9(2), 3334-3346.
- Obernberger I. (2003). Physical characteristics and chemical composition of solid biomass fuels. Script for the lecture "Thermochemical Biomass Conversion".
- Obernberger I., Brunner T., Bärnthaler G. (2006). Chemical properties of solid biofuels—significance and impact. *Biomass and Bioenergy*. 30(11), 973-982.
- Plištil D., Brožek M., Malaták J., Heneman P. (2004). Heating briquettes from energy crops. *Research in Agricultural Engineering*. 50(4), 136-139.
- Plištil D., Brožek M., Malaták J., Roy A., Hutla P. (2005). Mechanical characteristics of standard fuel briquettes on biomass basis. *Research in Agricultural engineering*. 51(2), 66-72.
- Pradhan, P., Mahajani, S.M., Arora, A. (2018). Production and utilization of fuel pellets from biomass: A review. *Fuel Processing Technology*. 181, 215-232.
- Stahl M., Granström K., Berghel J., Renström R. (2004). Industrial processes for biomass drying and their effects on the quality properties of wood pellets. *Biomass and Bioenergy*. 27(6), 621-628.
- Thek, G., Obernberger, I. (2012). *The pellet handbook: the production and thermal utilization of biomass pellets*. Routledge.
- Van Dam J.E., van den Oever M.J., Teunissen W., Keijsers E.R., Peralta A.G. (2004). Process for production of high density/high performance binderless boards from whole coconut husk: Part 1: Lignin as intrinsic thermosetting binder resin. *Industrial Crops and products*. 19(3), 207-216.

## **Pelletizing and briquetting of energy crops**

### **Summary**

There is a growing need to develop technologies that would replace the use of fossil fuels with renewable energy sources in an economically and environmentally sustainable way. Biomass pelletizing and briquetting can eliminate many of biomass poor characteristics which can occur by using the biomass as a fuel in direct combustion. The technology of biomass pelleting and briquetting requires its prior appropriate preparation of mixture in terms of pellets or briquettes physical and chemical composition to meet the demanding standards. Based on the above, the paper will present the possibility of energy crops pelleting and briquetting given the growing trend of using biomass as a substitute for fossil fuels.

**Key words:** pellets, briquettes, physical properties, chemical properties

## Karakterizacija biomase novih hibrida *Miscanthus sinensis* nakon žetve u prvoj vegetacijskoj godini

Vanja Jurišić, Mislav Kontek, Magdalena Milinković, Ana Matin, Mateja Grubor

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska  
([vjurisic@agr.hr](mailto:vjurisic@agr.hr))

### Sažetak

U okviru BBI DEMO projekta GRACE, na Pokušalištu Šašinovec se prati uzgoj osam novih hibrida *Miscanthus sinensis*. Zadatak projekta je utvrditi potencijal rasta ovih hibrida na tlu lošije kvalitete. Osim rasta i fizioloških parametara, prate se i energetska svojstva biljnog materijala, kako bi se utvrdile mogućnosti energetskog iskorištenja uzgojene biomase. Iako se puni prinos očekuje tek u trećoj godini uzgoja, monitoring biomase provodi se od zasnivanja nasada. Stoga je cilj ovog rada bio istražiti energetska svojstva novih hibrida miskantusa u prvoj vegetacijskoj godini. Rezultati upućuju na to da biomasa novih hibrida već u prvoj vegetacijskoj godini pokazuje visoki potencijal za energetska iskorištenje.

**Ključne riječi:** *Miscanthus sinensis*, novi hibridi, karakterizacija biomase, energetska svojstva

### Uvod

Zbog svojih svojstava, miskantus je sirovina koja može imati mnoštvo namjena, kao što su proizvodnja neposredne energije, biogoriva i bioproizvoda. Prinosi miskantusa mogu biti i do 40 t ha<sup>-1</sup>, a ovisi o mnogim čimbenicima poput genotipa, vrste tla, iskorištenja hranjivih tvari, starosti nasada, klimatskog podneblja i roka žetve tijekom vegetacijske sezone (Brosse i sur., 2012.). Imajući u vidu nove smjernice EU, proizvodnja namjenskih usjeva usmjerava se na tla lošije kvalitete, koje su slabije pogodna za konvencionalne kulture koje se uzgajaju za prehrambeni lanac. *Miscanthus x giganteus*, kao najčešće istraživana vrsta miskantusa, pokazala je zadovoljavajuće prinose na ovakvim tlima. Ipak, u okviru BBI DEMO projekta GRACE, istražuje se mogućnost uzgoja novih hibrida, križanaca *M. sinensis*, koji potencijalno, na lošijim tlima, mogu dati veće prinose nego *M. giganteus*. Slijedom navedenog, na Pokušalištu Šašinovec je u proljeće 2018. godine uspostavljen nasad s 14 novih hibrida, od kojih su šest križanci *M. sacchariflorus* i *M. sinensis*, a osam križanci *M. sinensis*. Uzgojeni biljni materijal se kontinuirano prati, s pozicije fizioloških parametara rasta, ali i s pozicije sastava biomase za potrebe daljnjeg iskorištenja. Stoga je cilj ovog rada bio analizirati sastav osam novih hibrida križanaca *M. sinensis* kako bi se utvrdila mogućnost njihova iskorištenja za proizvodnju energije.

### Materijal i metode

U istraživanju je korištena biomasa osam novih hibrida energetske kulture *Miscanthus sinensis* (u nastavku označeni od GRC1-GRC8), uzgojeni na fakultetskom pokušalištu Šašinovečki lug (45°50'59.1"N 16°11'25.8"E), na tlu lošije kvalitete (pseudoglej, pH 5,5-6,0), bez korištenja hranjiva. Uzorci su prikupljeni u kasnoj zimskoj žetvi prve vegetacijske sezone, u ožujku 2019. godine. Biomasa je osušena prirodnim putem, nakon čega su uzorci usitnjeni u laboratorijskom mlinu (IKA, Njemačka). Potom je standardnim metodama utvrđen sadržaj vode (HRN EN 18134-2:2015), pepela (HRN EN ISO 18122:2015), koksa (EN 15148:2009), fiksiranog ugljika (računski) i hlapive tvari (EN 15148:2009). Elementarni sastav određen je standardnim

metodama i to za sadržaj ugljika i vodika HRN EN ISO 16948:2015, sumpora 16994:2016, dok je kisik dobiven računski. U IKA C200 kalorimetru (IKA, Njemačka) je utvrđena empirijska ogrjevna vrijednost u uzorcima (HRN EN 14918:2010). Analiza makroelemenata provedena je na AAS (Perkin Elmer, AAnalyst 400), uz prethodnu pripremu uzoraka izgaranjem u mikrovalnoj peći (metode HRN EN ISO 16967:2015, HRN EN 16968:2015). Utjecaj hibrida na mjerena svojstva testiran je analizom varijance (ANOVA). Uzorci su bili uzorkovani s pet pozicija unutar pojedine uzgojne parcele, a analize su provedene u tri ponavljanja, pri čemu su podaci prikazani kao srednja vrijednost.

## Rezultati i rasprava

Tablica 1 prikazuje srednje vrijednosti analiza energetskih svojstava biomase osam novih hibrida miskantusa.

Tablica 1. Energetska svojstva biomase analiziranih hibrida

	Voda (%)	Pepeo*	Koks (%)	C <sub>fix</sub> (%)	Hlapive tvari (%)	HHV (MJ kg <sup>-1</sup> )
<b>GRC1</b>	14,39	4,67	15,89	11,44	79,32	17,54
<b>GRC2</b>	13,55	5,09	17,93	13,03	78,36	17,22
<b>GRC3</b>	12,41	5,13	17,42	12,52	77,87	17,64
<b>GRC4</b>	8,11	3,66	16,18	12,66	79,93	17,76
<b>GRC5</b>	15,77	4,79	16,38	11,81	79,05	16,38
<b>GRC6</b>	16,25	7,23	17,50	10,59	78,14	17,28
<b>GRC7</b>	12,30	5,75	18,25	12,76	77,25	17,57
<b>GRC8</b>	11,48	4,26	16,59	12,51	78,99	17,43

\*izraženo na suhu tvar

Udio vode u biomasi može značajno varirati i predstavlja nepoželjan sastojak u gorivu (Bilandžija i sur., 2018.). Iz Tablice 1 je vidljivo da se sadržaj vode u osam analiziranih uzoraka kretao od 8,11 (GRC4) do 16,25 % (GRC6). Porvaz i sur. (2012.) navode vrijednost za *M. sinensis* od 10,65 %. Analizom biomase *M. giganteus*, Patel i Gami (2012.) navode sadržaj vode od 11,5 %. Dobivena prosječna vrijednost sadržaja vode za istraživane hibride viša je u odnosu na uspoređene literaturne vrijednosti. Sadržaj vode u biomasi varira ovisno o vremenu žetve, klimatskim uvjetima, vrsti tla, metodama uzgoja te vrsti gnojiva.

Sadržaj pepela važan je parametar pri izgaranju biomase, a nepoželjan je zbog svog katalitičkog utjecaja na termičku razgradnju biomase (Bilandžija i sur., 2017.). Pepeo je kruti anorganski dio goriva koji ostaje nakon potpunog izgaranja te se sastoji se od Si, Al, Ti, Fe, Ca, Mg, Na, K, S i P, a njegov sastav ovisi o vrsti biljke i dijelu biljke, dostupnosti hranjivih tvari i kvaliteti tla. Prema Iqbal i Lewandowski (2016.), biomasa s manjim udjelom minerala, pepela i vlage poželjnija je jer se poboljšava učinkovitost pretvorbe i smanjuje se količina emisije CO<sub>2</sub>. Sadržaj pepela kod hibrida miskantusa (Tablica 1) kretao se od 3,66 (GRC4) do 7,23 % (GRC6). Porvaz i sur. (2012.) za istu kulturu navode vrijednost 3,46 %. Stolarski i sur. (2014.) navode vrijednost od 2,70 % za *M. sinensis* te 3,25 % za *M. sacchariflorus*. Khodier i sur. (2011.) navode sadržaj pepela u biomasi miskantusa od 4,60 %, dok Garcia i sur. (2012.) navode najvišu vrijednost pepela u biomasi miskantusa od 9,6 % u odnosu na prethodno navedene vrijednosti. Može se utvrditi da je sadržaj pepela kod hibrida miskantusa u prihvatljivim granicama, a varijabilnost proizlazi iz činjenice da je analizirana biomasa tek u svojoj prvoj vegetacijskoj godini, kada se i očekuje nešto viši udio pepela.

Udio koksa poželjno je negorivo svojstvo sirovine, a predstavlja sekundarni ugljen koji nastaje pri višim temperaturama. Gorivo je kvalitetnije što je njegov udio veći (Jurišić i sur., 2016.). U ovom istraživanju, najniži sadržaj je zabilježen kod GRC1 (15,89 %), a najviši kod GRC7 (18,25 %). Analizom biomase *M. sinensis*, Brosse i sur. (2012.) navode sadržaj koksa između 17,7 % i 17,9 %. Sadržaj koksa u biomasi *A. donax* L. iznosi 16,40 % prema Jurišić i sur. (2016.). Temeljem navedenog, može se utvrditi da je udio koksa u očekivanim vrijednostima za energetske kulture. Sadržaj fiksiranog ugljika predstavlja kruti ostatak nakon gorenja, koji ne sadrži pepeo i vlagu. Vrijednosti fiksiranog ugljika u analiziranim hibridima kretale su se od 10,59 % (GRC6) do 13,03 % (GRC2). Uspoređujući ih s dostupnim podacima za miskantus od 10,01 % (Krička i sur., 2017.), 11,40 % (Garcia i sur., 2012.) te 12,4 % (Nhuchhen i Salam, 2012.), evidentno je da su vrijednosti približne.

Goriva s višim sadržaj hlapivih tvari imaju nižu ogrjevnu vrijednost, tj. potrebna im je veća energija aktivacije od goriva koja sadrže manje hlapivih tvari (Krička i sur., 2012.). Najniži sadržaj je zabilježen kod GRC7 (77,25 %), a najviši kod GRC4 (79,93 %) (Tablica 1). Dobivene vrijednosti su u skladu s istraživanjima Acaroğlu i Aksoy (1998.), u kojima se sadržaj kreće od 75,0 % do 78,0 % u *M. sinensis*. Iz navedenog se može utvrditi da su dobiveni rezultati u granicama očekivanog.

Gornja ogrjevna vrijednost (engl. *higher heating value*, HHV) jedno je od najvažnijih svojstava goriva, a označava sadržaj energije koja se oslobodi prilikom izgaranja s kisikom (McKendry, 2002.). Iz Tablice 1 je vidljivo da je najniži sadržaj HHV zabilježen kod GRC5 (16,38 MJ kg<sup>-1</sup>), a najviši kod GRC4 (17,76 MJ kg<sup>-1</sup>). U svojem istraživanju, Acaroğlu i Aksoy (1998.) dobivaju vrijednost za *M. sinensis* od 17,41 – 17,9 MJ kg<sup>-1</sup>, dok Porvaz i sur. (2012.) utvrđuju vrijednost od 19,02 MJ kg<sup>-1</sup>. Uspoređujući rezultate HHV navedenih istraživanja, može se utvrditi da postoje odstupanja vrijednosti analiziranih hibrida u odnosu na literaturne podatke, što se može objasniti činjenicom da je nasad u svojoj prvoj vegetacijskoj godini, odnosno da je sastav stanične stjenke drugačiji nego kod zrele biljke.

Nadalje, analizom varijance testiran je utjecaj hibrida na sadržaj i mjerena energetska svojstva. U Tablici 2 prikazani su rezultati analize varijance energetskih svojstava.

Tablica 2. Analiza varijance energetskih svojstava u biomasi analiziranih hibrida

	Voda (%)	Pepeo (%)	Koks (%)	C <sub>fix</sub> (%)	Hlapive tvari (%)	HHV (MJ kg <sup>-1</sup> )
<b>F</b>	4,49	41,54	0,76	0,68	0,76	4,27
<b>p</b>	0,0061**	<0,0001***	0,6263	0,6840	0,6297	0,0077**

Legenda: p - vjerojatnost prihvatanja nulte hipoteze da nema razlike između hibrida; F - Fexp; Signif.: 0 '\*\*\*', 0,001 '\*\*', 0,01 '\*'.

Analizom varijance (Tablica 2) utvrđena je signifikantna razlika u sadržaju vode, pepela i gornjoj ogrjevnoj vrijednosti, dok u sadržaju koksa, fiksiranog ugljika i hlapivih tvari nema razlike između analiziranih hibrida.

Osim analize energetskih svojstava, provedena je analiza sastava makroelemenata. U Tablici 3 prikazan je njihov sadržaj u analiziranim hibridima miskantusa.

Tablica 3. Sadržaj makroelemenata u biomasi analiziranih hibrida

	Ca (mg kg <sup>-1</sup> )	Mg (mg kg <sup>-1</sup> )	K (mg kg <sup>-1</sup> )	Na (mg kg <sup>-1</sup> )
GRC1	1.388,00	319,90	839,10	18,58
GRC2	1.352,50	498,80	797,05	23,00
GRC3	1.083,00	433,80	837,90	17,97
GRC4	1.011,35	427,85	790,20	31,56
GRC5	1.195,00	363,60	846,95	29,90
GRC6	1.755,50	517,10	787,95	40,15
GRC7	1.389,50	359,60	781,80	40,87
GRC8	1.155,00	438,40	830,40	48,22

Sadržaj makroelemenata (Ca, Mg, K i Na) posebno je važan za bilo koji termokemijski pretvorbeni proces. Reakcija ovih alkalnih metala sa Si, prisutnim u pepelu, stvara ljepljivu, pokretnu tekuću fazu koja može dovesti do začepljenja puteva u pećima i kotlovima (McKendry, 2002.). Visoke koncentracije K u biljnom materijalu smanjuju talište pepela i uzrokuju koroziju, čime se smanjuje kvaliteta biomase kao goriva. Suprotno tome, Ca i Mg mogu pridonijeti povećanju temperature tališta pepela. Zato je prikladnija visoka koncentracija Mg i Ca, zajedno s niskim sadržajem K (Smith i Slater, 2010.). Na udio u biomasi utječu vrijeme žetve, vanjski utjecaji, pH tla, vremenske prilike, gnojidba itd.

U ovom istraživanju sadržaj makroelemenata u osam analiziranih *M. sinensis* hibrida kretao se u prosjeku od 1.288,19 mg kg<sup>-1</sup> Ca, 813,91 mg kg<sup>-1</sup> K, 419,88 mg kg<sup>-1</sup> Mg i 31,27 mg kg<sup>-1</sup> Na. Ti rezultati su nešto manji od ostalih uspoređenih istraživanja. Dahl i Obernberger (2004.) navode vrijednosti za divlje proso od 6.555 mg kg<sup>-1</sup> Ca, 12.756 mg kg<sup>-1</sup> K, 2.223 mg kg<sup>-1</sup> Mg i 924 mg kg<sup>-1</sup> Na. U provedenom istraživanju Coulson i sur. (2004.) sadržaj makroelemenata za *A. donax* L. kreće se od 2.349 do 2.949 mg kg<sup>-1</sup> Ca, 10.545 do 12.051 mg kg<sup>-1</sup> K, 1.289 do 1.632 mg kg<sup>-1</sup> Mg i 72,4 do 633 mg kg<sup>-1</sup> Na. Evidentno je da analizirani hibridi imaju značajno niže vrijednosti makroelemenata nego je to slučaj s literaturnim podacima, međutim treba naglasiti da je biomasa analiziranih hibrida miskantusa uzgojena na osiromašenom tlu slabije kvalitete, ali i da nije korištena prihrana.

Analizom varijance testiran je utjecaj hibrida na sadržaj makroelemenata (Tablica 4).

Tablica 4. Analiza varijance makroelemenata u biomasi analiziranih hibrida

	Ca (mg kg <sup>-1</sup> )	Mg (mg kg <sup>-1</sup> )	K (mg kg <sup>-1</sup> )	Na (mg kg <sup>-1</sup> )
F	23,54	7,89	1,89	9,90
p	<0,0001***	0,0046**	0,1962	0,0022**

Legenda: p - vjerojatnost prihvatanja nulte hipoteze da nema razlike između hibrida; F - Fexp; Signif.: 0 '\*\*\*', 0,001 '\*\*', 0,01 '\*'.

Analizom varijance (Tablica 4) utvrđena je signifikantna razlika u sadržaju Ca, Mg i Na. Vrijednosti sadržaja K u analiziranim hibridima ne razlikuju se značajno.

### Zaključak

Na temelju provedenih istraživanja energetske svojstava osam novih hibrida *M. sinensis* može se zaključiti da su analizirani hibridi pokazali poželjna energetska svojstva, jer su niži sadržaj vode, pepela, fiksiranog ugljika te visok sadržaj koksa i veća ogrjevna vrijednost poželjna svojstva za daljnje energetske iskorištavanje miskantusa. Međutim, potrebna su daljnja istraživanja, s ciljem praćenja kvalitete biomase tijekom narednih vegetacijskih sezona, a posebno od faze postizanja punog prinosa u trećoj vegetacijskoj godini.



## Napomena

Ovo istraživanje financirala je Europska komisija i *Bio-based Industries* konzorcij putem Obzor 2020 BBI-DEMO projekta br. 745012 „*GRowing Advanced industrial Crops on marginal lands for bioRefineries - GRACE*”.

## Literatura

- Acaroğlu M., Aksoy A. S. (1998). Third year growing results of C4 energy plant *Miscanthus sinensis* in producing energy from biomass. Objavljeno u *Biomass for Energy and the Environment: Proceedings of the 10th European Bioenergy Conference*. 758-759, Würzburg, Njemačka
- Bilandžija N., Jurišić V., Voća N., Leto J., Matin A., Sito S., Krička T. (2017). Combustion properties of *Miscanthus x giganteus* biomass – Optimization of harvest time. *Journal of the Energy Institute*. 90(4), 528-533.
- Brosse N., Dufour A., Meng X., Sun Q., Ragauskas A. (2012). *Miscanthus*: a fast-growing crop for biofuels and chemicals production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 6(5), 580-598.
- Dahl J., Obernberger I. (2004). Evaluation of the combustion characteristics of four perennial energy crops (*Arundo donax*, *Cynara cardunculus*, *Miscanthus x giganteus* and *Panicum virgatum*). *Proceedings of 2nd World Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection*, 1265-1270, Rim, Italija.
- Iqbal Y., Lewandowski I. (2016). Biomass composition and ash melting behaviour of selected *Miscanthus* genotypes in Southern Germany. *Fuel*. 180, 606-612.
- Jurišić V., Krička T., Matin A., Bilandžija N., Antonović A., Voća N., Torić T. (2016). Proizvodnja energije i proizvoda dodane vrijednosti pirolizom koštica trešnje i višnje. *Zbornik radova 51st Croatian and 11th International Symposium on Agriculture*, Pospišil i Vnučec (eds.), 475-479, Opatija, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.
- Krička T., Bilandžija N., Jurišić V., Voća N., Matin A. (2012). Energy analysis of main residual biomass in Croatia. *African Journal of Agricultural Research*. 7(48), 6383-6388.
- Krička T., Matin A., Bilandžija N., Jurišić V., Antonović A., Voća N., Grubor M. (2017). Biomass valorisation of *Arundo donax* L., *Miscanthus x giganteus* and *Sida hermaphrodita* for biofuel production. *International Agrophysics*. 31(4), 575-581.
- McKendry P. (2002). Energy production from biomass (part 1): Overview of biomass. *Bioresource Technology*. 83, 37-46.
- Nhuchhen D.R., Abdul Salam P. (2012). Estimation of higher heating value of biomass from proximate analysis: A new approach. *Fuel*. 99, 55-63.
- Patel B., Gami B. (2012). Biomass Characterization and its Use as Solid Fuel for Combustion. *Iranica Journal of Energy & Environment*. 3(2), 123-128.
- Porvaz P., Tóth Š., Marcin A. (2012). Cultivation of Chinese silvergrass (*Miscanthus sinensis* Anderss.) On the east Slovak lowland as a potential source of raw material for energy purposes. *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*. 58(4), 146-153.
- Smith R., Slater F. M. (2010). Mobilization of minerals and moisture loss during senescence of the energy crops *Miscanthus x giganteus*, *Arundo donax* and *Phalaris arundinacea* in Wales, UK. *GCB Bioenergy*. 3(2), 148-157.
- Stolarski M., Krzyżaniak M., Śnieg M., Słomińska E., Piórkowski M., Filipkowski R. (2014). Thermophysical and Chemical Properties of Perennial Energy Crops Depending on Harvest Period. *International Agrophysics*. 28, 201-211.

## **Characterization of the novel *Miscanthus sinensis* hybrids in the first vegetation season**

### **Summary**

As part of the BBI DEMO project GRACE, eight new hybrids of *Miscanthus sinensis* are being monitored at the FAZ Experimental field. One project task is to determine the growth potential of these hybrids on low-quality soil. In addition to growth and physiological parameters, the energy properties of plant material are being monitored. Although the full yield is expected only in the third year of its cultivation, the biomass monitoring is carried out starting from the plot establishment. Aim of this study was to investigate the energy properties of novel miscanthus hybrids in the 1<sup>st</sup> vegetation season. The results indicate that the biomass of the hybrids shows a high potential for its energetic utilization already in the 1<sup>st</sup> vegetation season.

**Key words:** *Miscanthus sinensis*, novel hybrids, biomass characterization, energy properties

The research was financed by the European Commission and Bio-based Industries consortium via H2020 BBI-DEMO project No. 745012 „*G*rowing *A*dvanced *i*ndustrial *C*rops on *m*arginal lands for *b*ior*E*fineries - *GRACE*”.

## Mogućnost proizvodnje energije iz kukuruzovine uzgojene u različitim sustavima obrade tla na Pokušalištu Šašincev

Mislav Kontek, Luka Brezinščak, Vanja Jurišić

*Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska  
(mkontek@agr.hr)*

### Sažetak

Žetveni ostaci proizvodnje i dalje pružaju jednostavan i ekonomski isplativ izvor sirovine za pretvorbu u energiju. No, pri takvom obliku iskorištavanja otpadne biomase, vrlo je važno voditi računa o preporukama održivog gospodarenja tлом. Cilj ovog rada bio je istražiti mogućnost iskorištenja kukuruzovine iz komercijalne proizvodnje zrna kukuruza na Pokušalištu Šašincev za vlastite potrebe proizvodnje toplinske energije. Provedena je analiza dostupnosti kukuruzovine iz komercijalne proizvodnje po žetvenoj jedinici (4,06 t ST ha<sup>-1</sup> – 6,74 t ST ha<sup>-1</sup>). Prikupljenoj biomasi određena su energetska svojstva te uspoređena s dosadašnjim istraživanjima. Izračunom ukupnog energetskeg sadržaja dostupne kukuruzovine (15.177,92 MJ ha<sup>-1</sup> – 24.836,66 MJ ha<sup>-1</sup>), moguće je zaključiti kako Pokušalište raspolaže s dovoljnom količinom energenata za djelomični ili potpuni nadomjestak vlastitih potreba grijanja.

**Ključne riječi:** Pokušalište Šašincev, kukuruzovina, energetska iskoristivost

### Uvod

Podizanje ekološke osviještenosti, uz težnju prema energetske neovisnosti, u posljednjem desetljeću dovela je do povećanja korištenja obnovljivih izvora energije, gdje biomasa predstavlja približno 60 % proizvedene energije. Preko 70 % te biomase koristi se u sektoru grijanja (Eurostat, 2018.). S druge strane, polovina ukupne topline proizvedene iz obnovljivih izvora koristi se za grijanje kućanstava (Bioenergy Europe, 2020.). Za tu potrebu, biomasu je moguće koristiti u postojećim sustavima, bez ili uz minimalne i jednostavne izmjene.

Premda je prisutan trend namjenske proizvodnje biomase za energiju iz kultura druge generacije na tlima niže kvalitete, najjeftiniji izvori biomase, uz šumske, jesu poljoprivredni ostaci nakon žetve i/ili prerade, koji su u osnovi pogodni za energetske zbrinjavanje. No, pri takvom obliku iskorištavanja otpadne biomase, vrlo je važno voditi računa o preporukama održivog gospodarenja tлом. Naime, 70 % ostataka preostalih nakon žetve potrebno je inkorporirati u tlo (Ivanović i Glavaš, 2013.) kako bi se održale i obnovile njegove fizikalno-kemijske značajke.

Pronalazak održivog sustava obrade tla kojim bi se proizvelo dovoljno biomase za potrebe tla i za iskorištavanje u obliku energenata, zahtjeva objektivan i kritički pristup (Bilandžija, 2014.). Na Pokušalištu Šašincev odvija se poljoprivredna proizvodnja sukladna plodoređu (soja-kukuruz-pšenica). Trenutačne površine pod kukuruzom (5 ha) na Pokušalištu Šašincev, rezultat su niske otkupne cijene sirovog zrna i nedostatka sušare. Zatvaranjem proizvodnog ciklusa, korištenjem ostataka biomase na Pokušalištu, odnosno proizvodnjom energije za vlastite potrebe, ostvario bi se temelj za održivu proizvodnju kukuruza.

Cilj ovog rada bio je utvrditi mogućnost održive proizvodnje energije za vlastite potrebe iz kukuruzovine preostale nakon žetve u različitim sustavima obrade tla na Pokušalištu Šašincev.

### Materijal i metode

U ovom istraživanju korištena je kukuruzovina hibrida Bc424 (FAO 460) preostala nakon žetve. Pokus je postavljen na Pokušalištu Šašincev (45°50'59.1"N; 16°11'25.8"E) u proljeće 2020. godine. Kukuruz je uzgojen u sklopu od 75 000 zrna ha<sup>-1</sup> pri tri različita sustava obrade tla: a) CT – jesensko oranje, proljetno tanjuranje, b) MT – proljetna motokultivacija te c) RT – jesensko podrivanje, proljetna motokultivacija. Žetva je određena dostizanjem tehnološke zrelosti, te su prinosi preračunati na 14 % udjela vlage u zrnu. Nakon uzorkovanja utvrđen je prinos kukuruzovine pri različitim tipovima obrade.

Laboratorijske analize provedene su u tri ponavljanja, a svi podaci su iskazani na suhu tvar. Prikupljenoj biomasi određen je sadržaj vlage u svježem uzorku standardnom metodom (HRN EN 18134-2:2015). Biomasa je potom usitnjena za potrebe daljnje analize u laboratorijskom mlinu (IKA Analysentechnik GmbH, Njemačka). Standardnim metodama određen je sadržaj pepela (HRN EN ISO 18122:2015), koks (EN 15148:2009), fiksiranog ugljika (EN 15148:2009), hlapivih tvari (EN 15148:2009), gornje ogrjevne vrijednosti IKA C200 kalorimetrom (IKA Analysentechnik GmbH, Heitersheim, Njemačka) (EN 14918:2010) te donje računski. Sadržaj ugljika, vodika, dušika (HRN EN ISO 16948:2015), sumpora (HRN EN ISO 16994:2015) te kisika (računski) određen je metodom suhog izgaranja u Vario, Macro CHNS analizatoru (Elementar Analysensysteme GmbH, Njemačka). Na dobivenim rezultatima provedena je analiza varijance ANOVA, dok su razlike između srednjih vrijednosti testirane t-testom uz Bonferronijevu korekciju (5 %) (R Studio, 2019).

### Rezultati i rasprava

Određivanjem prinosa biomase kukuruzovine po žetvenoj jedinici površine, moguće je utvrditi biomasu dostupnu u ukupnoj proizvodnji. U Tablici 1 prikazane su vrijednosti dostupne kukuruzovine.

Tablica 1. Dostupna kukuruzovina na Pokušalištu pri različitim sustavima obrade

Sustav obrade	Ukupno nakon žetve (1 ha)	Faktor iskoristivosti (0,3)	Učinkovitost prikupljanja (70 %)	U ukupnoj proizvodnji (5 ha)
CT	5,13	1,54	1,08	5,38
MT	4,06	1,22	0,85	4,26
RT	6,74	2,02	1,42	7,08
<b>Prosjeck</b>	<b>5,31</b>	<b>1,59</b>	<b>1,12</b>	<b>5,58</b>

\*CT - jesensko oranje, proljetno tanjuranje; MT – proljetna motokultivacija; RT – jesensko podrivanje, proljetna motokultivacija. Sve vrijednosti izražene su u t ST ha<sup>-1</sup>

Ukupni prinos kukuruzovine preostale nakon žetve kretao se od 4,06 t ST ha<sup>-1</sup> kod sustava obrade MT, dok je kod sustava obrade RT iznosio 6,74 t ST ha<sup>-1</sup>, odnosno s prosječnim prinosom od 5,31 t ST ha<sup>-1</sup>. Usporedno s prosječnim petogodišnjim prinosom kukuruzovine (Bilandžija i sur., 2018.) od 6,35 t ST ha<sup>-1</sup>, može se zaključiti kako je prosječan prinos na Pokušalištu nešto niži od Hrvatskog, no pri RT sustavu obrade on ga nadilazi. Ukupno dostupna biomasa kukuruzovine iz ukupne godišnje proizvodnje kukuruza (5 ha), uz dozvoljenu iskoristivost od 30 % biomase te učinkovitost mehaniziranog prikupljanja od 70 %, iznosi prosječno 5,58 t ST ha<sup>-1</sup>. U svrhu uvida u energetske karakteristike kukuruzovine, provedena je analiza osnovnih energetske svojstava čije su vrijednosti prikazane u tablici 2.

Tablica 2. Srednje vrijednosti određivanih energetske svojstva kukuruzovine

Sustav obrade	Voda	Pepeo	Koks	Fiksirani ugljik	Hlapive tvari
CT	78,09 <sup>b</sup>	5,60 <sup>a</sup>	13,34 <sup>a</sup>	7,74 <sup>a</sup>	85,32 <sup>b</sup>
MT	80,68 <sup>c</sup>	6,69 <sup>b</sup>	15,42 <sup>c</sup>	8,74 <sup>b</sup>	82,94 <sup>a</sup>
RT	74,28 <sup>a</sup>	7,32 <sup>c</sup>	14,52 <sup>b</sup>	7,20 <sup>a</sup>	83,96 <sup>a</sup>
	Ugljik	Vodik	Dušik	Sumpor	Kisik
CT	48,27 <sup>b</sup>	5,92 <sup>a</sup>	0,67 <sup>b</sup>	0,40 <sup>b</sup>	44,74 <sup>a</sup>
MT	45,72 <sup>a</sup>	5,78 <sup>a</sup>	0,55 <sup>a</sup>	0,38 <sup>b</sup>	47,57 <sup>b</sup>
RT	46,25 <sup>a</sup>	5,80 <sup>a</sup>	0,67 <sup>b</sup>	0,33 <sup>a</sup>	46,96 <sup>b</sup>

\*CT - jesensko oranje, proljetno tanjuranje; MT – proljetna motokultivacija; RT – jesensko podrivanje, proljetna motokultivacija. Sve vrijednosti izražene su u postotnom udjelu u suhoj tvari

Istraživana svojstva ključna su za karakterizaciju energetske iskoristivosti biomase. Niski sadržaji vode, pepela, fiksiranog ugljika i hlapivih tvari te visoki sadržaj koka poželjna su svojstva. Kod svih istraživanih svojstava zabilježena je signifikantna razlika između različitih sustava obrade tla ( $p < 0.05$ ). Sadržaj vode u kukuruzovini prilikom prikupljanja iznosio je najniže 74,28 % kod RT obrade, te 80,68 % kod MT obrade. To je iznimno visok sadržaj vode usporedno s hibridima Bc462 (FAO 400) i Bc344 (FAO 300) (Grubor i sur., 2018.). U navedenom istraživanju kukuruzovina je sadržavala neznatno različit sadržaj vode, odnosno 13,27 % i 13,58 %. Takva razlika može se objasniti različitim FAO grupama, odnosno time da istraživani hibrid Bc424 dostiže tehnološku zrelost nakon hibrida korištenih u literaturi, te je kukuruzovina korištena u ovom istraživanju uzorkovana neposredno nakon žetve. Niži sadržaj vode u biomasi može se postići kasnijim rokom prikupljanja biomase, nakon perioda bez padalina.

Sadržaj pepela u istraživanoj kukuruzovini kretao se od 5,60 % (CT) do 7,32 % (RT), što je usporedno sa srednjim sadržajem pepela u istraživanju Antonović i sur. (2016.) gdje je on iznosio 7,84 %, no značajno viši od 3,77 % (Grubor i sur., 2018.). S prosječnim sadržajem od 6,53 %, prema EN ISO 17225-1:2014 normativu o graničnim vrijednostima, istraživana kukuruzovina zadovoljava uvjete sadržaja pepela.

Sadržaj koka (13,34 % - 15,42 %) i fiksiranog ugljika (7,20 % - 8,74 %) istraživane kukuruzovine bio je usporediv, no povoljnijeg sadržaja usporedno s istraživanjem Grubor i sur. (2018.), gdje je sadržaj koka iznosio između 13,40 % i 13,78 %, a fiksiranog ugljika između 8,34 % i 10,19 %. Sadržaj hlapivih tvari u ovom istraživanju iznosio je između 82,94 % (MT) i 85,32 % (CT), što je neznatno više od Bc344 hibrida (82,63 %), no znatno više od Bc462 hibrida (71,95 %) (Grubor i sur., 2018.).

Elementarni sastav, odnosno sadržaj ugljika, vodika, dušika, sumpora i kisika neposredno je povezan s procesom gorenja biomase, gdje veći sadržaj vodika i ugljika pozitivno utječe na izgaranje, dok prisustvo sumpora, kisika i dušika utječe negativno. Kukuruzovina CT obrade imala je signifikantno povoljniji sadržaj ugljika (48,27 %) u odnosu na MT i RT (45,72 % i 42,25 %). Bc426 sadržavao je znatno niži (41,13 %), a Bc344 znatno viši (53,03 %) sadržaj ugljika (Grubor i sur., 2018.), dok su Drava 404 (48,26 %) i Bc282 (47,45 %) bili usporedivi (Matin i sur., 2016.). Sadržaj ugljika u istraživanju nije pokazao signifikantnu razliku (5,83 %), što je usporedivo sa 5,93 % (Bc462) i 5,81 % (Bc344) (Grubor i sur., 2018.) te viši od 4,08 % (Drava 404) i 4,12 % (Bc282) (Matin i sur., 2016.). Sadržaj dušika kretao se između 0,55 % (MT) i 0,67 % (CT i RT), što je niže od 0,90 % (Bc344) i 0,99 % (Bc462) (Grubor i sur., 2018.), dok je sadržaj sumpora u istraživanju iznosio između 0,33 (MT) i 0,40 (CT), što je više od 0,18 % (Bc344) i 0,25 % (Bc462) (Grubor i sur., 2018.) te 0,08 % (Drava 404) i 0,10 % (Bc282) (Matin i sur., 2016.). Istraživana kukuruzovina sadržavala je između 44,74

% (CT) i 47,57 % (RT) kisika, što je niže ili usporedno s 51,71 % (Bc462) (Grubor i sur., 2018.), 48,33 % (Bc282) te 47,58 % (Drava 404) (Matin i sur., 2016.), no značajno više nego 40,08 % (Bc344) (Grubor i sur., 2018.).

Nakon provedenih analiza energetske svojstava i elementarnog sastava, utvrđeno je da je kukuruzovina, dostupna na Pokušalištu, usporediva s dosadašnjim istraživanjima te ne odstupa od standardnih vrijednosti, neovisno o tipu obrade tla.

U svrhu utvrđivanja ukupnog energetskeg potencijala kukuruzovine uzgojene na Pokušalištu, utvrđene su ogrjevne vrijednosti biomase kukuruzovine te ukupni teoretski potencijal kukuruzovine po proizvodnoj jedinici (tablica 3).

Tablica 3. Ogrjevne vrijednosti kukuruzovine po jedinici

Sustav obrade	HHV (MJ kg <sup>-1</sup> )	LHV (MJ kg <sup>-1</sup> )	HHV (MJ ha <sup>-1</sup> )	HHV (MJ 5 ha <sup>-1</sup> )	HHV (MWh 5 ha <sup>-1</sup> )
CT	18,44 <sup>b</sup>	17,14 <sup>b</sup>	19.851,83	99.259,16	27,57
MT	17,80 <sup>ab</sup>	16,54 <sup>ab</sup>	15.177,92	75.889,60	21,08
RT	17,54 <sup>a</sup>	16,27 <sup>a</sup>	24.836,66	124.183,29	34,49
<b>Prosjek</b>	<b>17,93</b>	<b>16,65</b>	<b>19.955,47</b>	<b>99.777,35</b>	<b>27,71</b>

\* CT - jesensko oranje, proljetno tanjuranje; MT – proljetna motokultivacija; RT – jesensko podiranje, proljetna motokultivacija; HHV – gornja ogrjevna vrijednost, LHV – donja ogrjevna vrijednost

Ogrjevna vrijednost jedno je od najvažnijih svojstava koje opisuje energetskeg potencijal, određuje učinkovitost uporabe biomase te se koristi za projektiranje sustava za njeno energetskeg iskorištenje. Predstavlja ukupnu toplinsku energiju koju gorivo sadrži. Gornja ogrjevna vrijednost (HHV) istraživane kukuruzovine iznosila je između 17,54 MJ kg<sup>-1</sup> (RT), odnosno 18,44 MJ kg<sup>-1</sup> (CT). U istraživanju koje su proveli Grubor i sur. (2018.), kukuruzovina je imala niži HHV, odnosno 16,16 MJ kg<sup>-1</sup> (Bc344) i 16,28 MJ kg<sup>-1</sup> (Bc462). HHV kukuruzovine u istraživanju Matin i sur. (2016.) iznosio je 17,86 MJ kg<sup>-1</sup> (Drava 404) i 17,82 MJ kg<sup>-1</sup> (Bc282), što je usporedivo s hibridom korištenim u ovom istraživanju. Donja ogrjevna vrijednost (LHV) istraživane kukuruzovine iznosila je između 16,27 MJ kg<sup>-1</sup> (RT), odnosno 17,14 MJ kg<sup>-1</sup> (CT), što je usporedivo sa srednjom vrijednosti za LHV kukuruzovine u Hrvatskoj od 16,47 MJ kg<sup>-1</sup> (Bilandžija i sur., 2018.).

Preračunom ogrjevne vrijednosti masene jedinice goriva na ukupno dostupnu biomasu, teoretska energetskeg iskoristivost preostale biomase iz proizvodnje kukuruza na Pokušalištu Šašinovec iznosi između 75.889,60 MJ (MT) i 124.183,29 MJ (RT) godišnje, odnosno 21,08 MWh i 34,49 MWh. Prosječna godišnja potrošnja toplinske energije Pokušališta za potrebe grijanja 270 m<sup>3</sup> prostora iznosi 19,32 MWh. Slijedom navedenog, moguće je utvrditi kako korištenje žetvenih ostataka kukuruzovine za potrebe grijanja može djelomično ili u potpunosti nadomjestiti vlastite energetske potrebe grijanja zatvorenih prostora Pokušališta Šašinovec.

## Zaključak

Temeljem provedenog istraživanja biomase kukuruzovine iz komercijalne proizvodnje na fakultetskom Pokušalištu Šašinovec, moguće je zaključiti kako Pokušalište raspolaže s kvalitetnim energentom u količinama koje su dostatne za djelomičnu supstituciju konvencionalnih energenata na Pokušalištu.

Izračunom energetskeg potencijala dostupne kukuruzovine te usporedbom s prosječnom godišnjom potrošnjom toplinske energije Pokušališta, dostupna kukuruzovina predstavlja

dostatnu količinu energenta za djelomičan ili potpuni nadomjestak vlastitih potreba grijanja poslovnog prostora. Slijedom navedenog, potrebno je provesti detaljnu analizu prostora i postojećeg sustava grijanja na Pokušalištu s ciljem precizne projekcije mogućnosti iskorištenja dostupne biomase i ostvarivanja djelomične ili potpune enregtske neovisnosti istoga.

## Literatura

- Antonović A., Krička T., Matin A., Jurišić V., Bilandžija N., Voća N., Stanešić J. (2016). Biochar quantification and its properties in relation to the raw material. Objavljeno u *Zbornik radova - 51. hrvatski i 11. međunarodni simpozij agronoma*, Pospšil i Vnućec (eds), 445-449. Opatija, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Bilandžija N. (2014). Perspektiva i potencijal uzgoja kulture *Miscanthus x giganteus* u Republici Hrvatskoj. Inženjerstvo okoliša. 1, 81-87.
- Bilandžija N., Voća N., Jelčić B., Jurišić V., Matin A., Grubor M., Krička T. (2018). Evaluation of Croatian agricultural solid biomass energy potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 93, 225-230.
- Bioenergy Europe. (2020). Bioenergy Europe Statistical Report 2020. Bruxelles, Belgija: Europska udruga biomase.
- Eurostat. (2018). Share of energy from renewable sources. Raspoloživo: <http://ec.europa.eu/eurostat/web/energy/data/shares>.
- Grubor M., Krička T., Bilandžija N., Jurišić V., Voća N., Antonović A., Matin A. (2018). Kukuruzovina kao energent za proizvodnju krutog goriva. Objavljeno u *Zbornik radova - 53. hrvatski i 13. međunarodni simpozij agronoma*, Rozman i Antunović (eds), 275-279. Vodice, Hrvatska: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Ivanović M., Glavaš H. (2013). Potencijali i mogućnosti iskorištenja biomase iz ratarske i voćarske proizvodnje na području Slavonije i Baranje, studija. ETF, Osijek, Hrvatska.
- Matin A., Krička T., Jurišić V., Voća N., Antonović A., Bilandžija N., Grubor M., Miličević I. (2016). Iskoristivost biomase kukuruza za proizvodnju toplinske energije. Objavljeno u *Zbornik radova - 51. hrvatski i 11. međunarodni simpozij agronoma*, Pospšil i Vnućec (eds), 489-492. Opatija, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.

## Possibility of energy production from maize biomass grown in different tillage systems at Šašincev Experimental Station

### Summary

Agricultural production residues continue to be an inexpensive source of energy. Following the increase in the use of renewable energy sources, this paper investigates the possibility of using maize from the commercial production of corn grain at the Experimental station Šašincev for own heating purposes. An analysis of the availability of maize biomass from the commercial production per harvest unit was performed ( $4,06 \text{ t ST ha}^{-1} - 6,74 \text{ t ST ha}^{-1}$ ). The energy properties of the collected biomass were determined and compared with the previous research. By calculating the total energy content of available corn ( $15.177,92 \text{ MJ ha}^{-1} - 24.836,66 \text{ MJ ha}^{-1}$ ), it is possible to conclude that the Experimental station has a sufficient amount of energy for partial or complete replacement of conventional fuel for its own heating purposes.

**Key words:** Experimental station Šašincev, maize biomass, energy efficiency

## Utjecaj skladištenja na higroskopsnost sječke *Side hermaphrodite*

Tajana Krička, Ana Matin, Mateja Grubor

*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska  
(mgrubor@agr.hr)*

### Sažetak

Po definiciji skladištenje je završni zahvat u cjelokupnom procesu proizvodnje u poljoprivredi. Za potrebe proizvodnje biogoriva potrebno je skladištiti sječku biomase kroz cijelu godinu. Temeljem toga u ovom radu skladištena je sječka *Side hermaphrodite* veličine do 5 cm godinu dana u tri vrste skladišta i to u silosu, nadstrešnici i ispod cerade. Dobiveno je da je prosječna temperatura zraka, kao i količina padalina najmanje utjecala na vlagu sječke biomase *Side hermaphrodite* u silosu, zatim ispod nadstrešnice, a najveći utjecaj bio je na sječku ispod cerade.

**Ključne riječi:** skladištenje, sječka *Side hermaphrodite*, promjena vlage

### Uvod

Svaki biološki materijal u dodiru sa zrakom upija ili otpušta vlagu (higroskopsnost). U ovisnosti o vlažnosti materijala i njegovoj temperaturi, kao i o vlažnosti i temperaturi zraka, dolazi do upijanja ili otpuštanja vlage (Koppejan i sur., 2013.). Takva (upijena ili ispuštena) vlaga naziva se higroskopsnom vlagom, a kad materijal dođe u ravnotežu s okolnim zrakom i kad više ne dolazi do izmjene vlage, odnosno vlage se međusobno ustale, dolazi do tzv. higroskopsne ravnoteže (Singh, 2004.).

Međutim, u koliko dođe do promijene bilo kojeg parametra, materijal doživljava promjene.

Kako je u procesu proizvodnje poljoprivredne biomase za potrebe proizvodnje biogoriva, ova pojava naročito izražena u procesu skladištenja, neophodno je na nju obratiti pažnju (Yu i sur., 2014.).

Naime, po definiciji skladištenje je zadnja operacija u tehnološkom nizu proizvodnje. Skladištenje se može promatrati u širem i užem smislu. U širem smislu skladište je ograničeni ili neograničeni, pokriveni ili nepokriveni prostor koji se koristi za čuvanje materijala pa i biomase, s ciljem odvijanja poslovnih procesa. U užem smislu skladište je mjesto gdje se smješta, čuva i izdaje materijal na daljnju obradu (Renko, 2011.).

Posljednjih godina poljoprivredna biomasa dobiva sve veći značaj u proizvodnji biogoriva. Postoje dvije osnovne podjele biogoriva i to s obzirom na oblik krajnjeg korištenja i vrstu sirovine od koje se proizvode (Krička i sur., 2017.). Tu se posebno ističe poljoprivredna lignocelulozna biomasa, a poglavito višegodišnje energetske kulture (Lewandowski i sur., 2003.). Među takvim kulturama je i *Sida hermaphrodita* (L) ili još nazvana Virginia Mellow. Ova višegodišnja kultura spada u skupinu sljezova, ima prosječnu visinu od 1,0 do 4,5m (obično oko 3). širi se rizomima ili presadnicama u gustoću od 10 000 do 20 000 tisuća po hektaru. Njezini prinosi iznose i do 25t/ha i traje do 20 godina. Žetva biomase, ovisno o regiji, provodi se u veljači, ožujku ili travnju ili u vrijeme prvih jesenskih mrazeva (Kasprzyk i sur., 2013.; Krička i sur., 2017.).



Nakon žetve *Sida hermaphrodita* transportira se u skladišta gdje se dorađuje (najčešće sječka) do momenta daljnje prerade koja može biti tek za godinu dana.

Po definciji sječka su komadići biomase rezanih dimenzija i oblika koji nastaju sječenjem i usitnjavanjem sirovine (biomase). Razlikuju se tri kategorije sječke i to oko 3 cm je fina sječka, do 5 cm je srednja sječka i do 10 cm je krupna sječka (Krhen, 2012.).

Za dobivanje sječke koriste se samo strojni postupci usitnjavanja. Što je biomasa suhlja, potrebno je više energije za proizvodnju sječke. Zbog toga je bitno da se sirovina odmah nakon žetve/berbe/sječe obradi. Za korištenje sječke u ložištima kotlova vlaga sirovine ne smije biti veća od 20%, a veličina sječke treba biti podjednaka.

Međutim, sječka tijekom transporta, a poglavito dugotrajnog skladištenja, zbog higroskopske ravnoteže s okolinom, može se ovlažiti, pa je prije upotrebe potrebno kontrolirati vlagu biomase

Temeljem svega navedenog cilj ovog rada je pratiti vlagu sječke *Sida hermaphrodita* u odnosu na okolinu kroz cijelu godinu uskladištenu na tri različita načina i to: skladištenu u silosu, ispod cerade i pokrivenu ceradom.

### Materijal i metode

Nakon jesenjske žetve *Sida hermaphrodita* biomasi je određena vlaga standardnom metodom HRN EN 18134-2:2015 te se pristupilo izradi sječke. Sječka je bila prosječne veličine do 5 mm. Dobivena sječka četvrtanjem (kako bi uzorci bili ujednačeni) podjeljena je na tri dijela i uskladištena pod nadstrešnicom, pokrivena ceradom i u silosu u gradu Zagrebu. Svaki mjesec uzimani su uzorci kojima je određena vlaga istom standardnom metodom, a temperatura zraka mjerena je psihrometrom. Mjesečna količina padalina dobivena je s mjerne postaje Maksimir od strane Državnog hidrometeorološkog zavoda.

Na temelju dobivenih vrijednosti izrađen je dijagram promjene stanja vlage u biomasi *Sida hermaphrodita* u odnosu na godišnje doba i načina skladištenja.

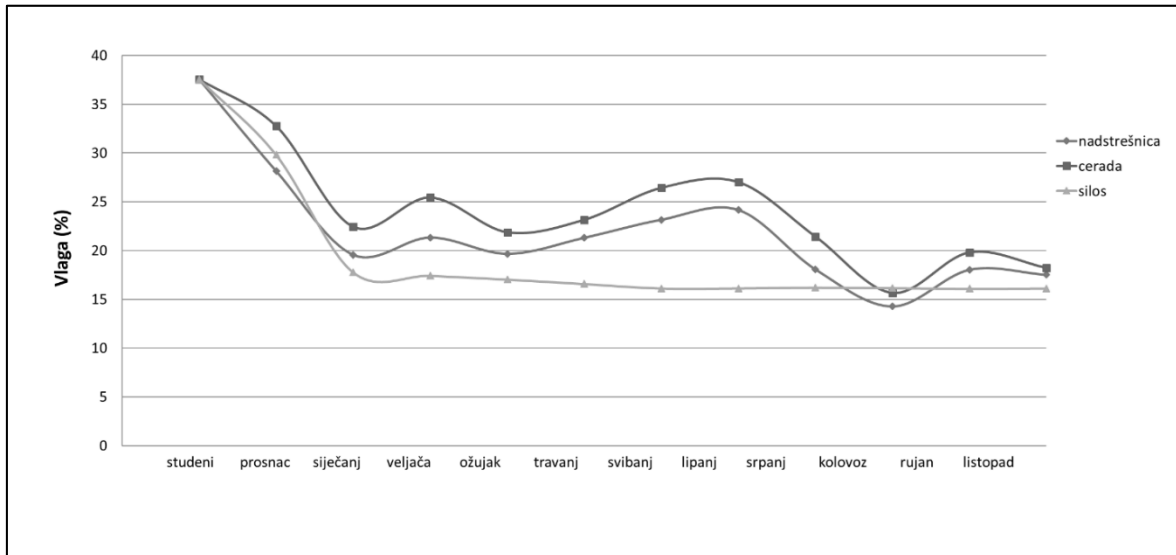
### Rezultati i rasprava

Na sam proces skladištenja neposredno utječe temperatura zraka, kao i količina padalina u godini. Temeljem toga u ovom istraživanju na mjesečnoj bazi kroz cijelu godinu skladištenja sječka biomase *Sida hermaphrodita* pratile se naredne veličine (tablica 1). Nadalje, uz navedeno pratila se i vlaga biomase *Sida hermaphrodita* (%) također na mjesečnoj bazi kroz cijelu godinu za sva tri načina skladištenja (nadstrešnica, cerada, silos). U Tablici 1. i Grafikonu 1. prikazane su dobivene vrijednosti.

Tablica 1. Vlaga biomase *Sida hermaphrodite* i prosječna mjesečna temperatura zraka okoline te količine padalina

mjeseci/skladištenje	vlaga materijala (%)			temperatura (°C)	količina padalina (mm)
	nadstrešnica	najlon	silos		
studeni	37,57	37,57	37,57	6,8	96,2
prosinac	28,16	32,77	19,81	-0,4	1,9
siječanj	19,57	22,44	17,77	-3,2	34,3
veljača	21,34	25,43	17,42	5,2	41,4
ožujak	19,67	21,87	17,03	10,0	19,8

travanj	21,31	23,15	16,58	12,4	44,3
svibanj	23,16	26,43	16,12	17,7	35,2
lipanj	24,16	27,01	16,13	22,5	107,8
srpanj	18,07	21,43	16,2	24,0	58,0
kolovoz	14,27	15,65	16,15	23,7	39,1
rujan	18,03	19,81	16,09	15,4	239,6
listopad	17,51	18,22	16,12	11,9	72,0



Grafikon 1. Sadržaj vlage sječke *Sida hermaphrodite* prilikom različitih načina skladištenja

Sječka biomase prosječne veličine do 5cm nakon četvrtanja (kako bi uzorak bio usporediv) uskladišten je s prosječnom vlagom od 37,57%.

Nakon mjesec dana skladištenja najveću količinu vlage izgubila je biomasa *Sida hermaphrodita* uskladištena u silosu i uz manje oscilacije zadržala je sigurnu ulogu skladištenja (ispod 20%) kroz razdoblje od godinu dana.

Međutim, temperatura zraka okoline, kao i padaline imale su veliki utjecaj na sječke biomase *Sida hermaphrodita* prilikom skladištenja ispod nadstrešnice i cerade. Veća oscilacija ipak je bila prisutna kod skladištenja ispod cerade. Zbog tako velikih promijena može doći do pojave različitih bolesti, što opet djeluje na kakvoću biomase, ali i na gubitak iste.

Zbog svega navedenog preporuča se sječku čuvati u zaštićenim i zatvorenim prostorima (silos) kako bi se osigurala kvalitetna biomasa kroz cijelu godinu.

### Zaključak

Temeljem godišnjeg mjerenja vlage sječke biomase *Sida hermaphrodita* veličine do 5 cm, na tri načina skladištenja (silos, cerada, nadstrešnica), može se utvrditi da temperature zraka okoline, kao i količina padalina imaju neposredan utjecaj na vlagu biomase.

Kad toga se je najpouzdanji način skladištenja pokazao u silosu, dok je skladištenje ispod nadstrešnice i cerade bilo jako podložno okolini.

## Napomena

Ovo istraživanje financirao je Europski fond za regionalni razvoj putem K.K.01.1.1.04.0091 projekta ‘‘Dizajn naprednih biokompozita iz energetski održivih izvora – BIOKOMPOZITI’’.

## Literatura

- Kasprzyk A., Leszczuk A., Domaciuk M., Szczuka E. (2013). Stem morphology of the *Sida hermaphrodita* (L.) Rusby (Malvaceae). *Modern Phytomorphology*. 4, 25.
- Koppejan J., Lönnemark A., Persson H., Larsson I., Blomqvist P., Arshadi M., Baxter D. (2013). Health and safety aspects of solid biomass storage, transportation and feeding. *IEA Bioenergy*. 1, 3-23.
- Krhen P. (2012). Energetsko iskorištavanje šumske biomase u Hrvatskoj. Diplomski rad, Rudarsko–geološko–naftni fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1-53.
- Krička T., Grubor M., Jurišić V., Leto J., Voća N., Bilandžija N., Matin A. (2017). Nova energetska kultura *Sida hermaphrodita* u Republici Hrvatskoj. *Glasnik Zaštite Bilja*. 40(5), 44-49.
- Krička T., Matin A., Bilandžija N., Jurišić V., Antonović A., Voća N., Grubor M. (2017). Biomass valorisation of *Arundo donax* L., *Miscanthus* × *giganteus* and *Sida hermaphrodita* for biofuel production. *International agrophysics*. 31(4), 575.
- Lewandowski I., Scurlock J.M.O., Lindvall E., Christou M. (2003). The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe. *Biomass and Bioenergy* 25. 335-361.
- Renko S. (2011). Poslovna logistika. Skripta, Ekonomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska.
- Singh R. N. (2004). Equilibrium moisture content of biomass briquettes. *Biomass and Bioenergy*. 26(3), 251-253.
- Yu M., Cannayen I., Hendrickson J., Sanderson M. (2014). Moisture sorption kinetics of switchgrass, big bluestem, and bromegrass biomass. *Transactions of the ASABE*. 57(4), 1219-1230.

## Influence of storage on the hygroscopicity of *Sida hermaphrodite* chips

### Summary

By definition, storage is the final step in the entire production process in agriculture. For the needs of biofuel production, it is necessary to store biomass chips throughout the year. Based on this, in this paper, *Sida hermaphrodite* chips up to 5 cm in size were stored for one year in three types of storage, in silos, canopies and under tarpaulins. It was obtained that the average air temperature as well as the amount of precipitation had the least effect on the moisture of the *Sida hermaphrodite* biomass chips in the silo, then under the canopy, and the greatest influence was on the chips under the tarpaulin.

**Key words:** storage, *Sida hermaphrodite* chips, moisture changes

## Digital Transformation Readiness: Case Studies in Agriculture

Ana Kutnjak, Katarina Tomičić-Pupek, Igor Pihir

*Faculty of Organization and Informatics, University of Zagreb, Pavlinska 2, Varaždin, Croatia  
(ana.kutnjak@foi.unizg.hr)*

### Summary

Industries will sooner or later succumb to digital transformation (DT) and the agricultural sector is no exception. The aim of this paper is to (i) gain insights into readiness for performing DT initiatives in the agricultural sector based on several case studies and (ii) further test the applicability, coverage and appropriateness of a data collection instrument across different industries by applying it in the agriculture. The results show different readiness of organizations to take on DT initiatives and confirm the applicability of the questionnaire to the agri-sector. Based on the research results, conclusion arises that agriculture has recognized the DT as a way of proposing new values within the industry and that assistance is needed for strengthening the readiness of organizations for these initiatives.

**Key words:** agriculture, digital transformation, smart farming, food production, case study

### Introduction

The agricultural industry is like other industries under the transformation pressure driven by digital technologies. Digital transformation influences the future of value chains and industries and agriculture is no exception. Therefore it is up to the agricultural sector to respond to the changing demands and promising opportunities that DT offers. A wide set of technologies is available to the mentioned sector – from smart devices, Artificial Intelligence, the Internet of Things, Big Data, drones, robotics to social media, and each of these technologies affects agricultural operations and management. The indispensable role is seen in the use and management of big data, making agricultural operations more efficient, flexible and productive. DT of agriculture should enable its sustainability (Hrustek, 2020) and make it easier to overcome the challenges that are increasingly present in the market. Also, digital transformation needs to help to determine the real needs of the agricultural sector (Lopez-Morales et al., 2020) and guide its step forward.

Emerging concepts, as smart farming and smart food production, boost managing farms using technologies with the aim of increasing product quality (Colezea et al., 2018) as well as production quantity, farming competitiveness and profit (Triantafyllou et al., 2019), while optimizing human labor and production errors, and all to influence risk reduction and work control (Treiber et al., 2020). „*Smart Farming involves the use of Information and Communications Technology (ICT) and, in particular, the Internet of Things (IoT) and related big data analytics to improve agricultural operations and processes*“ (Barreto and Amaral, 2018). Smart farming promises to be a useful solution for farmers which ensures the agricultural sustainability, by implementing innovative technologies to help solve operational problems which farmers face (Mabele and Mutegi, 2019). Farmers have begun to use a *radically new models of producing food, where data-driven decisions help reduce the use of harmful or scarce inputs* (Lajoie-O'Malley et al., 2020) and the number of errors at all stages of production is decreasing (Ivanova et al., 2020). In food production, it becomes necessary to look for new, optimized ways of using natural resources (Lopez-Morales et al., 2020), (Das and Dey, 2021) and achieve a high standard for production (Brohm and Klein, 2020) - this is

exactly what the use of technology in certain spheres of production can help. The low level adoption of the smart agriculture concept by farmers does not lead to the use of its full potential (Ibrahim et al., 2020). Considering that digital technologies are changing the way of doing business in the agricultural sector, farmers will continue to face a variety of challenges they will need to solve. Among these challenges some are related to how to manage new knowledge (Ingram and Maye, 2020), how to upgrade farmers digital competencies, how to solve technical or security issues, how to overcome infrastructural barriers or how to make the agriculture „interesting“ to the younger population (Kutnjak et al., 2020).

### **Material and methods**

For researching the scope of digital transformation initiatives within the agricultural sector, multi-case-study approach was chosen in order to acquire basic research data informative enough to gain insights into what organizations have applied under their DT initiatives. Only initiatives were targeted which show some form of digital transformation and advanced technology implementation in agriculture, aiming business improvements through the application of digital technologies. Accordingly, the research included (i) a face-to-face interview for conducting a survey with participants, relying on a questionnaire developed by the author (Tomičić Furjan et al., 2020) and (ii) an assessment of the organization's readiness to launch a digital initiative based on an online available tool, Digital Readiness Level, DRL assessment (*Digital Readiness Level*, n.d.). The questionnaire used within this research was previously tested by IT professionals as experts for DT in examining DT initiatives, and was adjusted for this survey in its part relevant for participant demographics. Questionnaire sections related to core business and technology concepts were replicated in their original appearance in order to further test the applicability, coverage and appropriateness of the data collection instrument across different industries. This way of research provides complete information on initiated or implemented digital transformation initiatives by organizations that link their business to the agricultural sector. The results present four case studies whereby two case studies were related to smart farming and the other two to food production. Each of the presented case studies provides an overview of digital transformation initiatives, the results which were obtained through the conducted interviews and the questionnaire. In addition to the above, organization's readiness to launch a digital initiative assessment was performed, and each organization was positioned at a certain level of readiness in accordance with the interview.

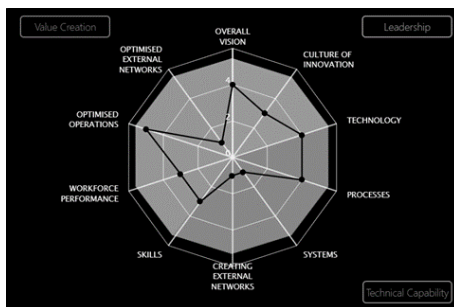
### **Results and discussion**

In this section, results of the case studies are presented in accordance with the initially set goal of the research. The results are divided into digital transformation initiatives related to food production and initiatives related to smart farming.

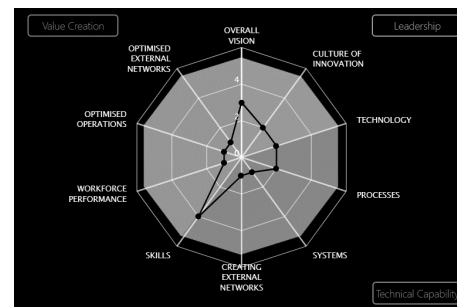
*Case study 1 – food production:* The first case study refers to the container cultivation of seedlings and vegetables in protected areas. The digital transformation initiative was launched with the aim of (1) improving business and increasing efficiency, and (2) increasing productivity in line with the growing needs for seedlings and final products by customers. In order to achieve the above, appropriate technology solution was procured, the use of which resulted in the achievement of the previous two goals. The introduction of an automatic seedling planting machine and a seedling transplant machine / robot arm accelerates the planting and transplanting process and reduces the workforce, which redirects its tasks to other non-automated activities within the business process. Protected areas for growing seedlings (greenhouses) are fully automated and equipped with technologies for sensor measurement of temperature, humidity, alarm systems, video surveillance systems

and automatic irrigation systems. The introduction of such technologies has resulted in reduced costs, increased production (10 times over) and increased delivery to end customers. Crucial elements that influenced the success of the transformation initiative were the competence of the project team members, the availability of funding and the availability of technology. Organization from case study 1 scores a DRL level 4. „*Organization seems not to be afraid of considering new digital approaches. It is looking into some of the potential digital streams that could be implemented down the line. As an explorer, organization has still not discovered all the benefits that digitalization could provide, but it is on the right path to unleash a new array of opportunities*“ (Digital Readiness Level, n.d.). See Picture 1.

*Case study 2 – food production:* The second case study is related to vegetable production, and the DT initiative is at an early stage of discovery. The organization uses technological solutions for processing and packaging of finished products (e.g. polishing machine, packing house, PVC machine), and in the near future the construction of a warehouse with air conditioning equipment that will be accompanied by smart / wearable devices is planned that will produce data for warehouse status management (temperature, humidity, amount of light etc.). Improving and increasing efficiency and increasing competitiveness have been identified as the most important drivers of the DT project, where the project is expected to increase revenue, increase the number of customers, enable expansion into new markets, reduce the duration of certain operations within business processes and enable fast delivery of goods to end customers. Given that the sharing economy is represented within the organization, the sources of funding and the availability of digital technologies are considered critical success factors. Organization from this case study scored DRL level 3. „*Organization has started implementing a few digital approaches and processes within its business. Although this is a good starting point, there is still a need for further exploration on what could digital do for business and how could organization quickly start taking advantage of the 4th industrial revolution*“ (Digital Readiness Level, n.d.). See Picture 2.



Picture 1. Assessment of digital readiness level for case study 1= DRL Level 4

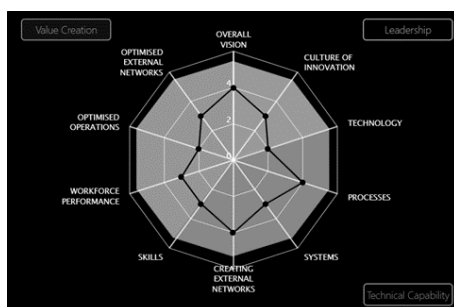


Picture 2. Assessment of digital readiness level for case study 2 = DRL Level 3

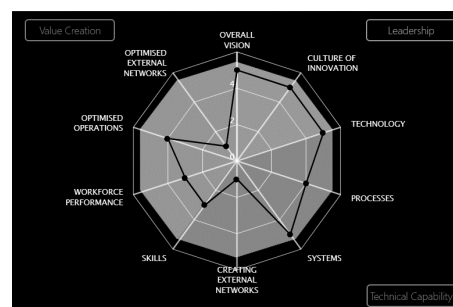
*Case study 3 – smart farming:* Farm management using modern information and communication technologies is the subject of the following case study. With the initiative of digital transformation, complete automation of keeping animals on the farm (cows) was performed - fertilization systems, milking and feeding systems, the process of milk preparation and processing as well as monitoring of cows' health, was automated. The smart farm manages automatic temperature regulation, but also the ventilation of all rooms on the farm. Increasing product quality, reducing and completely eliminating human error, increasing production, the ability to respond preventively due to knowledge management and advanced data analytics, and increasing revenue are the most important results of the digital transformation initiative. The drivers of the DT project are related to the improvement of business and achieving adequate quality and standards of final products. Technological

capabilities have made it possible to replace the human labor force that is lacking in this industry section. Sources of funding (need to secure large capital funds), support from management and the entire ownership team, as well as competencies, knowledge and skills of employees were identified as critical success factors, with an emphasis on understanding technology, technological capabilities and its benefits. Organization from case study 3 scores a DRL level 5. „This means that organization is well on its way to digitalizing business. The organizational leadership team recognizes the opportunity of digital and is gradually implementing it in different areas of business. Although it is still a long way to go, the organization is starting to operate in a more efficient way by using digital and benefiting from the opportunities it brings“ (Digital Readiness Level, n.d.). See Picture 3.

*Case study 4 – smart farming:* The last case study relates to smart farming. The motivation of the organization's management to improve current business processes using digital technology, but also market conditions that require livestock farmers to deliver their goods more efficiently, have been identified as the main drivers of the digital transformation initiative. Holding pigs on the farm is fully automated. The food chain, which includes food quantity and type control and also nutrition, is monitored by mobile devices and alarm systems, while ventilation systems are tailored to individual needs of the farm, according to the number and age of the animals. The organization has its own organized system of control of grain entry and exit to the farm (recording, QR code) which allows daily, weekly and monthly review of the mentioned data. Farming processes (plant husbandry) are guided by navigation systems that monitor the sowing, spraying and spreading of fertilizers. The farm is currently initiating a self-sustainability project with the aim of producing its own electricity. All of the above had the effect of reducing costs (saving animal feed, savings on spraying), disease prevention (by monitoring animal feeding data) and improving animal holding conditions, as well as increasing revenue due to increased product quality. As critical success factors for the DT project, the organization notes employee competence and family support, funding sources, and technology availability. Organization from case study 4 scored DRL level 5. „This means that organization is well on its way to digitalizing business. The organizational leadership team recognizes the opportunity of digital and is gradually implementing it in different areas of business. Although it is still a long way to go, the organization is starting to operate in a more efficient way by using digital and benefiting from the opportunities it brings“ (Digital Readiness Level, n.d.). See Picture 4.



Picture 3. Assessment of digital readiness level for case study 3 = DRL Level 5



Picture 4. Assessment of digital readiness level for case study 4 = DRL Level 5

## Conclusions

The presented case studies can be seen as flagship initiatives which show the potentials on a regional level, motivating others in their ecosystems to follow the change. Although the pictures 1-4 show quite different marks across assessment sections, implying different

readiness of organizations to go digital, similarities between them can be drawn. They all seem to struggle with assistance of various kinds needed for strengthening their capabilities and boosting thereby their readiness for transformation. Also, the transformation of the wider value chain and the ecosystem the evaluated organizations operate in, can be broadened in scope and in scale, which again demands appropriate support of IT, financial, education and other industries. The application of the data collection instrument i.e. the questionnaire formed to examine the main business and technology concepts was confirmed in its applicability, coverage and appropriateness within the agricultural sector, since organizations understood and agreed with the presented concepts as valuable. Based on the research results, DT can be seen as a mean for proposing more value within the agriculture.

## References

- Barreto, L., and Amaral, A. (2018). Smart Farming: Cyber Security Challenges. In R. JardimGoncalves, J. P. Mendonca, V. Jotsov, M. Marques, J. Martins, & R. Bierwolf (Eds.), 2018 9th International Conference on Intelligent Systems (is) (pp. 870–876). IEEE
- Brohm, K.-A., and Klein, S. (2020). The Concept of Climate Smart Agriculture—A Classification in Sustainable Theories. *International Journal for Quality Research*. 14(1), 291–302.
- Colezea, M., Musat, G., Pop, F., Negru, C., Dumitrascu, A., Mocanu, M. (2018). CLUeFARM: Integrated web-service platform for smart farms. *Computers and Electronics in Agriculture*. 154, 134-154.
- Das, A., and Dey, S. (2021). Global manufacturing value networks: Assessing the critical roles of platform ecosystems and Industry 4.0. *Journal of Manufacturing Technology Management. Digital Readiness Level*. (n.d.). DRL. Retrieved May 3, 2021, from <https://drl-tool.org>
- Hrustek, L. (2020). Sustainability Driven by Agriculture through Digital Transformation. *Sustainability*. 12(20), 8596.
- Ibrahim, R. E., Elramly, A., Hassan, H. M. (2020). Open systems science: Digital transformation and developing business model toward smart farms' platform. *International Journal of Circuits, Systems and Signal Processing*. 14, 1054-1073.
- Ingram, J., and Maye, D. (2020). What Are the Implications of Digitalisation for Agricultural Knowledge? *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 4, 66.
- Ivanova, S., Kvitka, S., Andrienko, M., Dolhyi, O., & Dolhyi, A. (2020). Information management reducing the risks of agricultural business in organic farming. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 208). EDP Sciences.
- Kutnjak, A., Pihir, I., & Furjan, M. T. (2020). Assessing Digital Transformation Readiness Using Digital Maturity Indices. In *Central European Conference on Information and Intelligent Systems* (pp. 307-314). Faculty of Organization and Informatics Varaždin.
- Lajoie-O'Malley, A., Bronson, K., van der Burg, S., Klerkx, L. (2020). The future(s) of digital agriculture and sustainable food systems: An analysis of high-level policy documents. *Ecosystem Services*. 45, 101183.
- Lopez-Morales, J. A., Skarmeta, A. F., & Martinez, J. A. (2020, June). Agri-food Research Centres as Drivers of Digital Transformation for Smart Agriculture. In *2020 Global Internet of Things Summit (GIoTS)* (pp. 1-5). IEEE.
- Lopez-Morales, Juan Antonio, Martinez, J. A., Skarmeta, A. F. (2020). Digital Transformation of Agriculture through the Use of an Interoperable Platform. *Sensors*. 20(4), 1153.
- Mabele, L. and Mutegi, L. (2019). Leveraging low-power wide area networks for precision farming: Limabora—a smart farming case using lora modules, gateway, ttn and firebase in Kenya. *Advances in Intelligent Systems and Computing*. 909, 259-272.
- Tomičić Furjan, M., Tomicic-Pupek, K., Pihir, I. (2020). Understanding Digital Transformation Initiatives: Case Studies Analysis. *Business Systems Research Journal*. 11, 125–141.
- Treiber, M., Hiendlmaier, P., Stumpfenhausen, J., Rupp, H., & Bernhardt, H. (2020). Equestrian IoT—a review of sensor systems available for deployment on horses, stables and pastures and what stakeholders in Germany think about it. In *2020 ASABE Annual International Virtual Meeting* (p. 1). American Society of Agricultural and Biological Engineers.



Triantafyllou, A., Tsouros, D. C., Sarigiannidis, P., & Bibi, S. (2019). An architecture model for smart farming. In 2019 15th International Conference on Distributed Computing in Sensor Systems (DCOSS) (pp. 385-392). IEEE.

## **Procjena spremnosti za digitalnu transformaciju poljoprivrede u Varaždinskoj županiji**

### **Sažetak**

Industrije će se prije ili kasnije susresti s potrebom za digitalnom transformacijom (DT), a poljoprivredni sektor nije iznimka. Cilj ovog rada je (i) steći uvid u spremnost za provođenje DT inicijativa u poljoprivrednom sektoru na temelju nekoliko studija slučaja u poljoprivrednoj industriji i (ii) dodatno ispitati primjenjivost, obuhvat i prikladnost instrumenta za prikupljanje podataka u različitim industrijama, primjenom istog u poljoprivredi. Rezultati ukazuju na različitu spremnost organizacija za provedbom DT inicijativa i potvrđuju primjenjivost upitnika na poljoprivrednom sektoru. Na temelju rezultata istraživanja dolazi se do zaključka da je poljoprivreda prepoznala DT kao sredstvo otkrivanja novih vrijednosti unutar industrije te da je potrebna pomoć za jačanje spremnosti organizacija za spomenute inicijative.

**Ključne riječi:** poljoprivreda, digitalna transformacija, pametan uzgoj, proizvodnja hrane, studija slučaja

## Korištenje mulja iz pročištača otpadnih voda u gnojidbi miskantusa

Josip Leto, Nikola Bilandžija, Hrvoje Kutnjak, Tomislav Karažija, Milan Poljak, Natalija Vugrin, Neven Voća

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska  
(e-mail: jleto@agr.hr)

### Sažetak

*Miscanthus x giganteus* (miskantus) je dugotrajna trava s visokim potencijalom rodnosti, malih zahtjeva za dušikom i pesticidima. Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj primjene zakonski dozvoljene količine mulja iz pročištača otpadnih voda (1,66 t ST ha<sup>-1</sup>) na prinos i komponente prinosa miskantusa u jesenskom i proljetnom roku žetve u odnosu na netretiranu kontrolu. Primjena 1,66 t ST mulja ha<sup>-1</sup> nije značajno utjecala na prinos i komponente prinosa miskantusa u jesenskom roku žetve. Prosječni prinos ST iznosio je 39,01 t ha<sup>-1</sup>, prosječni broj izboja 80,5 m<sup>-2</sup>, prosječna visina biljke 2,75 m, a prosječni sadržaj ST u biomasi 40,37 %. Primjena mulja nije značajno utjecala ni na proljetni prinos (20,46 t ST ha<sup>-1</sup>) i sadržaj suhe tvari miskantusa (85,06 %). U proljetnom roku došlo je do značajnog pada prinosa ST biomase miskantusa (46,63-48,45 %), dok je sadržaj ST značajno rastao kod oba tretmana (za 110,39-111,06 %) u usporedbi s jesenskim rokom žetve.

**Ključne riječi:** *Miscanthus x giganteus*, prinos, visina biljke, broj izboja, mulj otpadnih voda

### Uvod

Problem gospodarenja muljem datira od samih početaka proizvodnje mulja nakon pročišćavanja kanalizacijskih otpadnih voda. Kontinuiranim procesom unapređenja tehnologija pročišćavanja i primjenom sve strožih propisa o primjeni pročišćavanja globalno je rezultiralo porastom broja uređaja za obradu komunalnih otpadnih voda. Samim time kontinuirano raste i količina proizvedenog mulja, međutim njegovo zbrinjavanje predstavlja do 50 % ukupnih troškova uređaja. U početku su poljoprivreda i deponiji imali vodeće mjesto u zbrinjavanju mulja, dok se mulj rijetko spaljivao. Donošenjem EU direktiva kojima se ograničava, a potom zabranjuje, odlaganje na deponije, u većini zemalja poljoprivreda je postala vodećim načinom za konačno zbrinjavanje mulja sa uređaja za pročišćavanje komunalnih otpadnih voda. Naš Pravilnik o gospodarenju muljem iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi (NN 38/08) – u potpunosti prenosi odredbe Direktive Vijeća 86/278/EEZ, koja se primjenjuje u svim zemljama EU. Upravo je ova Direktiva najvažnija u zaštiti okoliša, posebno tla, kod uporabe mulja iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda u poljoprivredi i ona propisuje minimalne standarde kvalitete mulja koji se koristi u poljoprivredi i definira granične vrijednosti za teške metale. Koncentracije teških metala koje se mogu godišnje dodati poljoprivrednom tlu (kg ha<sup>-1</sup> godišnje), ovim Pravilnikom nisu propisane za pojedine teške metale kao što je to učinjeno Direktivom, već je propisano dopuštenje od najviše 1,66 t ST mulja godišnje po hektaru poljoprivrednog zemljišta.

Mnogi su autori utvrdili veće prinose biomase miskantusa primjenom mulja otpadnih gradskih voda (Krzywy i sur., 2003., Kalembasa i Malinowska, 2008., Lisowski i Porwiślak, 2010., Kołodziej i sur., 2016.), koji sadrži mnoga važna hraniva u vrijednosti stajskog gnoja, ali sadrži i brojne potencijalno opasne tvari kao što su teški metali i metaloidi (Singh i Agrawal, 2008., Seleiman i sur., 2013.). Uz povećanje prinosa mulj ima i pozitivan utjecaj

na biološka i fizikalno-kemijska svojstva tla (Casado-Vela i sur., 2006.; Singh i Agrawal, 2008., Usman i sur., 2012., Seleiman i sur., 2013.).

Cilj rada bio je utvrditi utjecaj primjene zakonski dozvoljene količine mulja otpadnih voda na prinos i komponente prinosa miskantusa u jesenskom i proljetnom roku žetve u odnosu na netretiranu kontrolu.

## Materijal i metode

Pokusno polje miskantusa (*Miscanthus x giganteus*) posađeno je na površinama Centra za travnjaštvo Agronomskog fakulteta na Medvednici (n.v. 650 m) krajem travnja 2011. g. reznicama rizoma na razmak 1 m (između i unutar redova), poluautomatskom sadilicom. Istraživanje je postavljeno u proljeće 2019. godine po shemi split plot u 4 ponavljanja s glavnim faktorom primjenom mulja otpadnih voda - 2 različite količine:  $M_0=0$  t ST  $ha^{-1}$  i zakonski dozvoljenih  $M_{1,66}=1,66$  t ST mulja  $ha^{-1}$  (osnovna parcela površine  $10 \times 5,25 = 52,5$   $m^2$ ) i podfaktorom rokom žetve: jesen i proljeće (podparcela  $5 \times 5,25$   $m^2 = 26,25$   $m^2$ ). Razmak između osnovnih parcela iznosio je 3 m.

Korišten je mulj iz pročištača otpadnih voda u Zagrebu stabiliziran na način da su u njemu uništeni patogeni organizmi, potencijalni uzročnici oboljenja. Analizirani mulj izrazito je alkalne reakcije (pH=12,05), s udjelom suhe tvari od 30,28 %. Uzorak mulja bogato je opskrbljen dušikom i fosforom (4,03 % N u S.T.; 3,89 %  $P_2O_5$  u ST), te slabo opskrbljen kalijem (0,61 %  $K_2O$  u ST). Analizom je utvrđena bogata opskrbljenost kalcijem (14,56 % Ca u ST) i slaba opskrbljenost magnezijem (0,61 % Mg u ST), te bogata opskrbljenost željezom (18.177 mg  $kg^{-1}$  u ST) i manganom (296 mg  $kg^{-1}$  u ST). Koncentracije teških metala i organskih tvari (PAH, PCB i dr.) nalaze se ispod maksimalno dopuštenih koncentracija propisanih Pravilnikom o gospodarenju muljem sa uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi (NN 38/2008, članak 5. i 6.) i Pravilnikom o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 9/2014, članak 5. i 8.). Patogene bakterije u predmetnom uzorku nisu izolirane. Jesenska žetva miskantusa obavljena je 7. studenog 2019. godine. Utvrđena su slijedeća svojstva: broj izboja, visina biljke, prinos suhe tvari i % suhe tvari u biomasi (tablica 1). Visina biljke određena je mjerenjem visine 20 slučajno odabranih biljaka od razine tla do visine razvijene plojke zadnjeg lista. Broj izboja po  $m^2$  utvrđen je na 20 slučajno odabranih mjesta na svakoj osnovnoj parceli mjerenjem svih stabljika miskantusa većih od 10 cm. Prinos ST utvrđen je ručnim odsijecanjem biljaka (motornom pilom) na obračunskoj podparceli  $1 \times 5$  m na visinu 5 cm od tla, vaganjem požnjevene mase, uzimanjem poduzoraka oko 1000 g sasjeckane mase, sušenjem 48 sati na 60 °C, ponovnim vaganjem i preračunavanjem u t  $ha^{-1}$  i % ST. Proljetna žetva miskantusa obavljena je 19. ožujka 2020. godine. Utvrđen je prinos suhe tvari i % suhe tvari u biomasi po istom principu kao i kod jesenske žetve. Nakon analize varijance kod signifikantnih efekata proveden je Fisherov test najmanje značajne razlike (Fisher's least significant difference test).

## Rezultati i rasprava

Primjena zakonski dozvoljenih 1,66 t ST mulja  $ha^{-1}$  nije značajno utjecala na prinos i komponente prinosa miskantusa u jesenskom roku žetve ( $P>0.05$ ) (tablica 1). Prosječni prinos ST iznosio je 39,01 t  $ha^{-1}$ , prosječni broj izboja 80,5  $m^{-2}$ , prosječna visina biljke 2,75 m, a prosječni sadržaj ST u biomasi 40,37 %. Primjena mulja nije značajno utjecala ni na proljetni prinos i sadržaj suhe tvari miskantusa ( $P>0.05$ ) (tablica 2). Prosječni prinos ST miskantusa iznosio je 20,46 t  $ha^{-1}$ , a prosječni sadržaj ST u biomasi 85,06 %.

Tablica 1. Prinos suhe tvari (PST), broj izboja (BI), visina biljke i % suhe tvari miskantusa u jesenskom roku žetve, Medvednica 2019.

Tretman muljem	PST t ha <sup>-1</sup>	BI m <sup>-2</sup>	VB m	ST %
M <sub>0</sub>	38,26	79,42	2,80	40,31
M <sub>1,66</sub>	39,75	81,58	2,69	40,42
Signifikantnost/ LSD <sub>0,05</sub>	ns 8,91	ns 12,88	ns 0,63	ns 2,31

Ns = Nije signifikantno

Tablica 2. Prinos suhe tvari (PST) i % suhe tvari miskantusa u proljetnom roku žetve, Medvednica 2020.

Tretman muljem	PST t ha <sup>-1</sup>	ST %
M <sub>0</sub>	20,42	85,08
M <sub>1,66</sub>	20,49	85,04
Signifikantnost/ LSD <sub>0,05</sub>	ns 2,98	ns 4,89

ns = Nije signifikantno

Iako nije bilo značajnih razlika u prinosima ST i sadržaju ST između primjene mulja i kontrole unutar pojedinih rokova žetve ( $P > 0.05$ ), značajne razlike su utvrđene između rokova žetve ( $P < 0.01$ ) (tablica 3). U odnosu na jesenski rok žetve u proljetnom roku došlo je do značajnog pada prinosa ST biomase miskantusa kod oba tretmana ( $P < 0.01$ ) i to od 46,63 % kod M<sub>0</sub> i 48,45 % kod M<sub>1,66</sub>. Nasuprot tome, očekivano došlo je do rasta sadržaja ST u oba tretmana ( $P < 0.01$ ) i to za 111,06 % kod M<sub>0</sub> i 110,39 % kod M<sub>1,66</sub>, uslijed prirodnog sušenja nasada miskantusa od studenog do ožujka.

Tablica 3. Razlike u prinosu suhe tvari (PST) i % suhe tvari miskantusa između jesenskog i proljetnog roka žetve

Tretman muljem	PST jesen t ha <sup>-1</sup>	PST proljeće t ha <sup>-1</sup>	ST jesen %	ST proljeće %
M <sub>0</sub>	38,26	20,42	40,31	85,08
M <sub>1,66</sub>	39,75	20,49	40,42	85,04
Signifikantnost/ LSD <sub>0,05</sub>	** 6,30		** 3,62	

\*\*Signifikantno na razini 0.01.

U istraživanju Kołodziej i sur., (2016.) u Poljskoj primjena mulja gradskih otpadnih voda značajno je povećala prinos miskantusa bez obzira na korišteni sadni materijal ili vrijeme žetve, a najveći prinosi (13,47 t ha<sup>-1</sup>) ostvareni su s manjim dozama mulja (10-20 t ST ha<sup>-1</sup>) i veći su od netretirane kontrole za 7,9 %. Iako u ovom istraživanju primjena mulja nije značajno utjecala niti na jesenski niti na proljetni prinos miskantusa, potvrđen je značajno veći proizvodni kapacitet miskantusa u odnosu na zemlje srednje i sjeverne Europe, jer je prinos varirao od maksimalnih 38,26 t ST ha<sup>-1</sup> u jesen do 20,42 t ST ha<sup>-1</sup> u proljeće nakon prirodnog sušenja biomase u polju tijekom zime. Pad prinosa od 46,63 % do 48,45 % normalan je za miskantus i uobičajeno se kreće od 35-45 % (Bilandžija i sur., 2018.).

Stope rasta miskantusa ovise o agroekološkim uvjetima uzgoja: tipu tla, oborini, temperaturama, gnojidbi itd. Stabljike mogu doseći visinu nešto preko 2 m u prvoj godini, pa do 4 m svake slijedeće godine (El Bassam, 1994.). Prosječna visina biljke 2,69-2,80 m dobivena u devetogodišnjem nasadu miskantusa niža je od prosječnih visina biljaka u istraživanjima na istoj lokaciji (Leto i sur., 2016., Bilandžija i sur., 2018.) (3,45-3,63 m), što je posljedica nepovoljnijih klimatskih uvjeta za rast miskantusa u 2019. godini. Primjena mulja nije značajno povećala visinu biljaka što nije u skladu s jasnom tendencijom povećanja visine biljaka s povećanjem doze mulja (Smith i Slater, 2010., Lisowski i Porwiślak, 2010., Kołodziej i sur., 2016.) uz napomenu da su u prethodnim istraživanjima korištene značajno veće količine mulja (0-60 t ST mulja ha<sup>-1</sup>), pa je i učinak primjene značajno drugačiji u odnosu na 1,66 t ST mulja ha<sup>-1</sup> primijenjenih u ovom istraživanju

Broj izboja po jedinici površine raste iz godine u godinu (2-5 puta), a najmanji je u godini sadnje (Leto i sur., 2016.). Također, uočena je tendencija rasta broja izboja s povećanjem količine primijenjenog mulja (Lisowski i Porwiślak, 2010., Kołodziej i sur., 2016.). U ovom istraživanju primjena mulja nije značajno utjecala na povećanje broja izboja u odnosu na netretiranu kontrolu, upravo zbog male količine primijenjenog mulja, ali vidljiv je daljnji rast gustoće sklopa u odnosu na prethodno istraživanje na istoj lokaciji kada je u četvrtoj godini starosti nasada utvrđeno prosječno 53-54 izboja m<sup>-2</sup> (Leto i sur., 2016., Bilandžija i sur., 2018.).

### Zaključci

Primjena 1,66 t ST mulja ha<sup>-1</sup> nije značajno utjecala na prinos i komponente prinosa miskantusa u jesenskom i proljetnom roku žetve u odnosu na netretiranu kontrolu. U proljetnom roku žetve došlo je do pada prinosa ST biomase miskantusa za više od 40 %, dok je sadržaj ST rastao kod oba tretmana za više od 100 % u usporedbi s jesenskim rokom žetve.

*Ovo istraživanje financirala je Hrvatska zaklada za znanost, u okviru projekta br. IP-2018-01-7472, "Zbrinjavanje mulja kroz proizvodnju energetskih kultura".*

*This research was funded by the Croatian Science Foundation, under project No. IP-2018-01-7472 „Sludge management via energy crops' production“.*

### Literatura

- Bilandžija, N., Voća, N., Leto, J., Jurišić, V., Grubor, Matin, A., Geršić, A., Krička, T. (2018). Yield and biomass composition of *Miscanthus x giganteus* in the mountain area of Croatia. *Transactions of Famena XLII- Special issue 1*: 51-60.
- Casado-Vela, J., Selles, S., Navarro, J., Bustamante, M.A., Mataix, J., Guerrero, C., Gomez, I. (2006). Evaluation of composted sewage sludge as nutritional source for horticultural soils. *Waste Management 26*: 946–952.
- EC (1986): Direktiva o zaštiti okoliša, posebno tla kod upotrebe mulja iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda u poljoprivredi (86/278/EEZ).
- El Bassam N. (1994). *Miscanthus - Stand und Perspektiven in Europa. Forum for Zukunfts-energien e. V. - Energetische Nutzung von Biomasse im Konsenz mit Osteuropa*. International Meeting, Jena: 201-212.
- Kalembasa, D., Malinowska, E. (2008). The influence of doses of waste activated sludge on the yield of *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack biomass, sulfur content and energetic value. *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych 533*: 173–179.
- Kołodziej, B., Antonkiewicz, J., Sugier, D. (2016). *Miscanthus x giganteus* as a biomass feedstock grown on municipal sewage sludge. *Industrial Crops and Products 81*: 72–82.

- Krzywy, E., Iżewska, A., Jeżowski, S. (2003). Estimation of possibility of municipal sewage sludge for fertilization of *Miscanthus sasachariflorus* (Maxi.). *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych* 494: 233–239.
- Leto, J., Bilandžija, N., Bošnjak, K., Vranić, M., Stuburić, I. (2016). Uzgoj *Miscanthus x giganteus* Greef et Deu. u različitim agroekološkim uvjetima Hrvatske-četverogodišnje iskustvo. Zbornik radova s 51. hrvatskog i 11. međunarodnog simpozija agronoma. M. Pospišil (ur.). 15-18. veljače 2016. Opatija, str. 233-237.
- Lisowski, J., Porwislak, H., (2010). Influence of sludge fertilization on yield of miscanthus (*Misacanthus x giganteus*). *Fragmenta Agronomica* 17 (4): 4–100.
- Narodne novine (38/2008). Pravilnik o gospodarenju muljem iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi.
- Narodne novine (9/2014). Pravilnik o načinima i uvjetima odlaganja otpada, kategorijama i uvjetima rada za odlagališta otpada.
- Singh, R.P., Agrawal, M. (2008). Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Management* 28 (2): 347–358.
- Seleiman, M., Santanen, A., Jaakkola, S., Ekholm, P., Hartikainen, H., Stoddard, F., Makela, P. (2013). Biomass yield and quality of bioenergy crops grown with synthetic and organic fertilizers. *Biomass and Bioenergy* 59: 477–485.
- Smith, R., Slater, F.M. (2010). The Effects of Organic and Inorganic Fertilizer Applications to *Miscanthus x giganteus*, *Arundo donax* and *Phalaris arundinacea*, When Grown as Energy Crops in Wales, UK. *GCB Bioenergy* 2: 169–179.
- Usman, K., Khan, S., Ghulam, S., Khan, M.U., Khan, N., Khan, M.A., Khali, S.K. (2012). Sewage sludge: an important biological resource for sustainable agriculture and its environmental implications. *American Journal of Plant Sciences* 3: 1708–1721.

## Use of sewage sludge in miscanthus fertilization

### Summary

*Miscanthus x giganteus* (miscanthus) is a long-lasting grass with high yield potential, low nitrogen and pesticide requirements. The aim of the study was to determine the impact of the application of the legally permitted amount of sewage sludge (1.66 t ST ha<sup>-1</sup>) on the yield and yield components of miscanthus in the autumn and spring harvest in relation to untreated control. Application of 1.66 t DM sludge ha<sup>-1</sup> did not significantly affect the yield and yield components of miscanthus in the autumn harvest period. The average DM yield was 39.01 t ha<sup>-1</sup>, the average number of shoots 80.5 m<sup>-2</sup>, the average plant height 2.75 m, and the average DM content in biomass 40.37 %. The application of sludge did not significantly affect the spring yield (20.46 t DM ha<sup>-1</sup>) and the dry matter content of miscanthus (85.06 %). In the spring there was a significant decrease in the DM yield (46.63-48.45 %), while DM content of biomass increased significantly in both treatments (for 110.39-111.06 %) compared to the autumn harvest.

**Keywords:** *Miscanthus x giganteus*, yield, plant height, number of shoots, municipal sewage sludge

## Valorizacija biomase brnistre i uljane repice za proizvodnju energije

Ana Matin<sup>1</sup>, Zorana Kovačević<sup>2</sup>, Vanja Jurišić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska (amatin@agr.hr)

<sup>2</sup> Sveučilište u Zagrebu Tekstilno – tehnološki fakultet, Prilaz baruna Filipovića 28a, Zagreb, Hrvatska

### Sažetak

Upotreba biomase za energiju povećala se zbog ublažavanja klimatskih promjena. Brnistra je izvor vlakna koja su biorazgradljiva i visoke otpornosti, a uljana repica je drugi najveći izvor biljnog ulja. Biomasa obje se može koristiti u energetske svrhe. Cilj ovog rada je odrediti njihova energetska svojstva, odnosno procijeniti potencijal njihove biomase za proizvodnju energije. Najznačajnije komponente su C i S, a utvrđene vrijednosti kretale su se oko 45% i 0,26% i ukazuju na dobru kvalitetu ispitivane biomase. HHV biomase brnistre bila je 17,64 MJ/kg, a repice 16,27 MJ/kg. Na temelju rezultata može se zaključiti da istražena biomasa ima velik potencijal kao sirovina za proizvodnju energije.

**Ključne riječi:** brnistra, uljana repica, biomasa, energija, valorizacija

### Uvod

Brnistra i uljana repica su odabrane za istraživanje u ovome radu zbog izrazito visokih stabljika i to do 1,5 metar, koje najčešće ostaju neiskorištene nakon prerade u primarni proizvod.

Brnistra (*Spartium junceum*) je samonikla biljna vrsta Sredozemlja koja raste pored mora i na otocima (Pamuković i sur., 2016.). U novije vrijeme prepoznata kao izvrsna sirovina za proizvodnju čvrstih prirodnih vlakana i biokompozita. Vlakna iz brnistre dijele slična fizikalno-kemijska i mehanička svojstva s izdržljivim lanenim vlaknima (Bischof i Kovačević, 2013.). Uljana repica (*Brassica napus*) je kultura čija se gospodarska važnost povećava iz godine u godinu u Hrvatskoj i Europskoj uniji (Kachel-Jakubowska i Szpryngiel, 2008.). Države članice EU (EU-28) proizvode više od 20 milijuna tona uljane repice, što ukupno čini 31% svjetske proizvodnje (FAOSTAT, 2016.; Matin i sur., 2019.).

Obzirom na ovako veliku proizvodnju uljane repice, nakon dorade za dobivanje jestivog ulja te ostale proizvode te nakon proizvodnje vlakana i biokompozita iz brnistre zaostaju velike količine ostataka koji pripadaju u poljoprivrednu lignoceluloznu biomasu. Na stupanj valorizacije biomase te njihova energetska svojstva utječe sastav te uvjeti uzgoja kao što su sunčeva svjetlost, zemljopisni položaj, klima, vrste tla, dostupna voda, pH tla i hranjive tvari.

Poljoprivredno lignocelulozna biomasa se može pretvoriti u korisne oblike energije pomoću nekoliko vrsta procesa, a izbor procesa pretvorbe ovisi o vrsti, svojstvima i količini dostupne biomase, o željenom konačnom obliku energije, okolišnim standardima i ekonomskim uvjetima (Krička i sur., 2017.).

Iz svega navedenog cilj ovog rada je odrediti njihova energetska svojstva, odnosno procijeniti potencijal njihove biomase za proizvodnju energije.

## Materijal i metode

Istraživanja su provedena na biomasi brnistre i uljane repice. Istraživanje je provedeno u Laboratoriju Zavoda za poljoprivrednu tehnologiju, skladištenje i transport, Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta.

Istraživana su negoriva i goriva svojstva, lignocelulozni sastav te ogrjevna vrijednost. Analiziran je sadržaj vode (HRN EN 18134-2:2015) u laboratorijskoj sušnici, pepela (HRN EN ISO 18122:2015) i koksa (CEN/TS 15148:2009) u mufolnoj pećnici, fiksnog ugljika i hlapljive tvari (EN 15148:2009) računski. Gornja ogrjevna vrijednost (HRN EN 14918:2010) određena je u kalorimetru (IKA, Njemačka), dok se donja ogrjevna vrijednost dobila računski. Sadržaj dušika (HRN EN ISO 16948:2015), ugljika i vodika (HRN EN ISO 16948:2015) te sumpora (HRN EN ISO 16994:2015) određen je CHNS analizatorom, dok se kisik izračunao računski. Određivanje udjela celuloze, hemiceluloze i lignina provedeno je modificiranom standardnom metodom ISO 5351-1:2002 u laboratoriju.

## Rezultati i rasprava

Nakon provedenih istraživanja u tablici 1. prikazani su rezultati sadržaja negorivih svojstva, u tablici 2. rezultati sadržaja gorivih svojstava, u tablici 3. rezultati sadržaja lignoceluloznog sastava, a u tablici 4. rezultati ogrjevne vrijednosti biomase brnistre i uljane repice.

Tablica 1. Rezultati negorivih svojstava biomase brnistre i uljane repice

Istraživani parametri	Brnistra	Uljana repica
Vlaga (%)	6,03	8,46
Pepeo (%)	2,45	5,23
Koks (%)	10,07	13,18
Fiksirani ugljik (%)	7,93	7,48
Dušik (%)	0,93	0,76

Sadržaj vode jedan je od važnijih parametara koji utječe na goriva svojstva neke biomase. O njemu ovisi kojom metodom će se sirovina prevesti do energije, odnosno goriva, te koliko će se potrošiti energije pri gorenju na isparavanje vode iz biomase. Sadržaj vode uvelike utječe na razliku između ogrjevnih vrijednosti (Ross, 2008.). Na osnovu rezultata biomase brnistre i uljane repice uočava se viši sadržaj vlage od skoro 2,50% kod biomase uljane repice. Zabaniotou i sur., (2008.) u svome istraživanju biomase uljane repice dobili su sadržaj vlage od 5,86%, što je u suglasju s isztaživanjem.

Sadržaj pepela uvelike utječe na iskoristivost biomase. Goriva s nižim udjelom pepela bolja su za termičko iskorištenje jer manje količine pepela olakšavaju njegovo uklanjanje, transport, skladištenje, iskorištenje i odlaganje (Krička, 2014.). Sadržaj pepela najčešće se kreće između 0,5 i 3%, ovisno o vrsti poljoprivredne biomase i dijelovima biomase, iako može varirati u vrlo širokom rasponu od 0,1% do 46% (Vassilev i sur., 2010.) što je u suglasju s ovim istraživanjem, iako se kao bolja biomasa pokazala brnistra s nižim sadržajem pepela od 2,45%. Sadržaj koksa predstavlja ostatak suhe destilacije te što je njegov udio veći, biomasa je kvalitetnija (Krička, 2017.), a sukladno tome viši sadržaj koksa je imala biomasa uljane repice 13,18%, dok je biomasa brnistre imala sadržaj koksa od 10,07%. Povećanjem sadržaja fiksnog ugljika u biomasi povećava se njena ogrjevna vrijednost, a samim time poboljšava se i sama kvaliteta biomase. Sadržaj fiksnog ugljika u biomasi predstavlja količinu vezanog ugljika putem fotosinteze u biomasi (McKendry, 2002.; Obenberger i Thek, 2004.). McKendry (2002.) navodi udio fiksnog ugljika kod linocelulozne biomase od 17%, a Kumar i Ghosh (2018.) od 17,3%, što su znatno više



vrijednosti nego dobivene u ovome istraživanju gdje se udio fiksiranog ugljika kod obje biomase kretao od 7,50% do 7,93%. Sadržaj dušika (N) također je važan jer smanjuje toplinsku vrijednost izgaranja i prilikom izgaranja biomase dio dušika se spaja s kisikom tvoreći dušične (NOx) spojeve koji imaju negativan utjecaj na okoliš (Garcia i sur., 2012.). Sadržaj dušika (N) kretao se od 0,76% kod uljane repice do 0,93% kod brnistre, što je u suglasju sa istraživanjem Kovačević i sur., (2019.) koji su u svojem istraživanju dobili sadržaj dušika (N) u biomasi brnistre 0,97%.

Tablica 2. Rezultati gorivih svojstava biomase brnistre i uljane repice

Istraživani parametri	Brnistra	Uljana repica
Ugljik (%)	45,97	44,38
Sumpor (%)	0,26	0,26
Vodik (%)	6,59	6,38
Kisik (%)	47,18	48,22
Hlapiva tvar (%)	84,18	83,35

Sadržaj gorivih tvari većinom je bio viši kod biomase brnistre pa tako i sadržaj ugljika (C). Ugljik je osnovni i najvažniji element svih vrsta goriva, a njegov veći sadržaj povećava energetska kvalitetu biomase te je poželjno svojstvo u biomasi (Dimitrijević, 1984.; Obernberger i Thek, 2004.; Vassilev i sur., 2010.; Bilandžija, 2017.).

Sadržaj sumpora (S) bio je identičan kod obje istraživane biomase i iznosio je 0,26%, a kako sumpor formira plinovite komponente, SO<sub>2</sub> i SO<sub>3</sub>, važan je njegov što niži sadržaj (McKendry, 2002.; Van Loo i Koppejan, 2008.; Garcia i sur., 2012.).

Viši sadržaj vodika (H) poboljšava kvalitetu samog goriva te povećava ogrjevnju vrijednost goriva (Obernberger i Thek, 2004.; Vassilev i sur., 2010.). Udio vodika, kako navodi McKendry (2002.) kod lignocelulozne biomase iznosi 6,30%, što je nešto niže nego u ovome istraživanju. Kisik (O) je element čija je prisutnost u gorivu nepoželjna. Prema dobivenim rezultatima sadržaj kisika u brnistri iznosi 47,18% te 48,22% u uljanoj repici. To su nešto više vrijednosti nego su dobili Kovačević i sur., (2019.) koji su u svome istraživanju dobili sadržaj kisika u brnistri od 45,12% te Karaosmanoğla i sur., (1999.) u uljanoj repici od 42,92%.

Hlapiva tvari vezana je uz komponente goriva koje se oslobađaju kada se gorivo zagrijava pri visokim temperaturama, stoga poželjno da je njihov sadržaj u biomasi što niži (Jenkins i sur., 1998.; McKendry, 2002.; Van Loo i Koppejan, 2008.; Vassilev i sur., 2010.; Bilandžija, 2017.). Sadržaj hlapivih tvari u biomasi brnistre bio je 84,18%, dok su Karaosmanoğla i sur., (1999.) dobili znatno nižu vrijednost od 75,55%, što je možda uzrok parametar agroklimatskih uvjeta uzgoja.

Tablica 3. Rezultati lignoceluloznog sastava biomase brnistre i uljane repice

Istraživani parametri	Brnistra	Uljana repica
Celuloza (%)	44,5	44,98
Hemiceluloza (%)	16,7	27,45
Lignin (%)	18,5	22,98

Celuloza je glavna komponenta građe biljaka, a njezina vlakna osiguravaju čvrstoću biljke i najčešće je ima između 40 do 60%. Hemiceluloza pripada grupi heteropolisaharida i najčešće je ima između 10 i 40%. Lignin ima kompleksan molekularni sastav i sastavljen je od fenilpropana, a najčešće ga ima između 10 i 25% (Matin i sur., 2018.). Dobiveni rezultati lignoceluloznog sastava obje istraživane biomase u skladu su sa navodima literature.

Tablica 4. Rezultati ogrjevne vrijednosti biomase brnistre i uljane repice

Istraživani parametri	Brnistra	Uljana repica
Gornja ogjevna vrijednost HHV (MJ/kg)	17,64	16,27
Donja ogjevna vrijednost LHV (MJ/kg)	15,89	15,21

Gornja ogrjevna vrijednost (HHV) količina je toplinske energije koja je dostupna prilikom potpune oksidacije goriva kada se iskorištava i toplina kondenzacije vodene pare koja nastaje prilikom izgaranja. Donja ogrjevna vrijednost (LHV) količina je toplinske energije koja se oslobađa prilikom potpune oksidacije goriva kada se odbija toplina kondenzacije vodene pare sadržane u otpadnom plinu. Donja ogrjevna vrijednost uvijek je manja od gornje ogrjevne vrijednosti ali predstavlja jedan od temeljnih parametara za klasifikaciju kvalitete biomase (Jenkins i sur., 1998.; Holtz, 2006.). Gornja (HHV) i donja (LHV) ogrjevna vrijednost bila je viša kod brnistre i iznosila je 17,64 MJ/kg te 15,89 MJ/kg. Kovačević i sur., (2019.) u svome istraživanju biomase brnistre dobili su gornju ogrjevnu vrijednost (HHV) 18,83MJ/kg te donju ogrjevnu vrijednost (LHV) 17,28 MJ/kg što su granične vrijednosti obzirom na one dobivene ovim istraživanjem.

### Zaključak

Temeljem vlastitih istraživanja biomase brnistre i uljane repice može se zaključiti da se navedena biomasa može koristiti za proizvodnju energije, iako je bolja energetska svojstva, osim sadržaja koksa imala biomasa brnistre. Dobiveni rezultati lignoceluloznog sastava biomasa ukazuju na mogućnost valorizacije istraživanih biomasa za različite tipove biogoriva. Gornja i donja ogrjevna vrijednost ukazuju na visoki energetski potencijal istraživanih biomasa.

### Napomena

Ovo istraživanje provedeno je u okviru Kohezijskog projekta „Dizajn naprednih biokompozita iz energetski održivih izvora (BIOKOMPOZITI)”.

### Literatura

- Bilandžija N., Jurišić V., Voća N., Leto J., Matin A., Grubor M. and Krička T. (2017). Energy valorization of *Miscanthus x giganteus* biomass: A case study in Croatia. Journal of processing and energy in agriculture. 21(1), 32-36.
- Bischof S. and Kovačević Z. (2013). Parts of the plant. From Weed to Fabric, Faculty of Textile Technology. University of Zagreb, Zagreb. 25-38.
- Dimitrijević R. (1984). Goriva i izgaranje. Savez energetičara Hrvatske, Zagreb, Hrvatska.
- FAOSTAT, 2016. FAOSTAT statistical database.
- Garcia R., Pizarro C., Lavín A.G., Bueno J.L. (2012). Characterization of Spanish biomass wastes for energy use. Bioresource Technology. 103, 249-258.
- Holtz, T. (2006) Holzpellet – Heizungen. Ökobuch. Freiburg, Deutschland.
- Jenkins B.M., Baxter L.L., Miles Jr. T.R., Miles T.R. (1998). Combustion properties of biomass. Fuel Processing Technology. 54, 17-46.
- Kachel-Jakubowska M., Szpryngiel M. (2008). Influence on drying condition on quality properties of rapeseed. International Agrophysics. 22, 327-331.
- Karaosmanoğlu F., Tetik E. and Göllü E. (1999). Biofuel production using slow pyrolysis of the straw and stalk of the rapeseed plant. Fuel processing technology. 59(1), 1-12.
- Kovačević Z., Jurišić V., Grubor M., Matin A., Krička T. and Bischof, S., 2019. Spanish Broom (*Spartium Junceum* L.) – Feedstock For Bioplastic And Bioenergy Industry. The holistic approach to environment. 9(3), 44-52.

- Krička T., Kiš D., Jurišić V., Bilandžija N., Matin, A., Voća, N. (2014). Ostaci poljoprivredne proizvodnje kao visokovrijedni “zeleni” energent u istočnoj Hrvatskoj. Hrvatska Akademija znanosti i umjetnosti, Zagreb.
- Krička T., Leto J., Bilandžija N., Grubor M., Jurišić V., Matin A., Voća N., Dović D., Horvat I. (2017). Tehnologija uzgoja, dorade i skladištenja energetske kulture *Sida hermaphrodita* (L.) Rusby, Zagreb.
- Kumar S., Ghosh P. (2018). Sustainable bio-energy potential of perennial energy grass from reclaimed coalmine spoil (marginal sites) of India, *Renewable Energy*. 123, 475-485.
- Matin A., Krička T., Grubor M., Leto J., Bilandžija N., Voća N., Jurišić V., Zmaić K., Kiš D., Kopilović I. (2019). Iskoristivost poslijezetvenih ostataka za proizvodnju zelene energije. Priručnik. Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek.
- Matin A., Majdak T., Grubor M., Vuković J. and Krička T. (2018). Release of water by convective drying from rapeseed at different temperatures. *Poljoprivreda*. 24(2), 50-56.
- McKendry P. (2002). Energy production from biomass (part 1): Overview of biomass. *Bioresource Technology*. 83, 37-46.
- Obenberger I., Thek G. (2004). Physical characterisation and chemical composition of densified biomass fuels with regard to their combustion behaviour. *Biomass and Bioenergy*. 27, 653-669.
- Pamuković A., Dorbić B. and Radelj M. (2016). Istraživanje mogućnosti primjene brnistre i njenih proizvoda na području srednje Dalmacije. *Sociologija i prostor: časopis za istraživanje prostornoga i sociokulturnog razvoja*. 54(3 (206)), 315-334.
- Ross C.J. (2008). *Biomass Drying and Dewatering for Clean Heat & Power*. Northwest CPH Application Center. USA.
- Van Loo S., Koppejan J. (2008). *The Handbook of Biomass Combustion and Co-Firing*; Earthscan: London, UK.
- Vassilev S.V., Baxter D., Andersen L.K. and Vassileva C.G. (2010). An overview of the chemical composition of biomass. *Fuel*. 89, 913-933.
- Zabaniotou A., Ioannidou O. and Skoulou V. (2008). Rapeseed residues utilization for energy and 2nd generation biofuels. *Fuel*. 87(8-9), 492-1502.

## Valorization of Spanish Broom and rapeseed biomass for energy utilization

### Summary

The use of biomass for energy utilization has increased due to climate change mitigation. The Spanish broom is a source of fibers that is biodegradable and highly resistant, and rapeseed is the second largest source of vegetable oil. Biomass can both be used for energy purposes. The aim of this paper is to determine their energy properties, ie to assess the potential of their biomass for energy utilization. The most important components are C and S, and the determined values were around 45% and 0,26% and indicate good quality of the examined biomass. HHV of Spanish broom biomass was 17,64 MJ/kg and rapeseed 16,27 MJ/kg. Based on the results, it can be concluded that the studied biomass has great potential as a raw material for energy production.

**Key words:** spanish broom, rapeseed, biomass, energy, utilization

## Energetska svojstva miskantusa nakon primjene mulja iz pročištača otpadnih voda

Jona Šurić, Anamarija Peter, Tajana Krička, Josip Leto, Nikola Bilandžija, Neven Voća

*Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska cesta 25, Zagreb, Hrvatska  
(jsuric@agr.hr)*

### Sažetak

Problem zbrinjavanja mulja iz pročištača otpadnih voda na poljoprivrednim površinama je u ograničenju njegove primjene na površine koje nisu namijenjene proizvodnji hrane. Korištenje mulja u uzgoju energetskih kultura na tlima lošije kvalitete nepogodnima za proizvodnju hrane jedno je od rješenja za zbrinjavanje mulja. Cilj ovog rada je utvrditi razlike u energetske svojstvima miskantusa nakon aplikacije Pravilnikom propisanih 1,66 t ha<sup>-1</sup> suhe tvari mulja iz pročištača otpadnih voda. Nakon provedenih analiza gorivih i negorivih tvari te ogrjevnosti utvrđeno je kako mulj ne utječe negativno na sastav biomase važnim za energetske iskoristivost.

**Ključne riječi:** miskantus, mulj, energetske svojstva biomase

### Uvod

Sve veći i nekontrolirani porast broja stanovništva u urbanim sredinama dovodi do povećanja potrošnje i upotrebe vode za svakodnevne ljudske potrebe (Singh i Agrawal, 2011.). Takav porast rezultira stvaranjem velikih količina otpadnih voda, koje prolaskom kroz razne pročištače, dovode do izdvajanja neželjenog nusproizvoda koji se naziva mulj (Vouk i sur., 2011.). Republika Hrvatska se obvezala, zbog Europske strategije gospodarenja otpadom (97/C76/01) koja se temelji na Okvirnoj direktivi o otpadu (74/442/EEC), smanjiti udio biorazgradivog otpada, pa tako i mulja koji se odlaže na komunalna odlagališta, čime zbrinjavanje otpadnog mulja iz pročištača otpadnih voda postaje veliki problem. Naime, zbrinjavanje mulja zahtijeva dodatne procese obrade prije ponovnog korištenja ili uporabe. Mogućnost ponovne upotrebe mulja ovisi u velikoj mjeri o njegovom fizikalnom i kemijskom sastavu, a sastav u značajnoj mjeri ovisi o tehnološkom procesu pročišćavanja vode i obrade mulja. Zbrinjavanje mulja je skup i ekološki osjetljiv postupak, a njegova obrada nije jasno definirana zakonskom regulativom čime je gospodarenje muljom značajno otežano. Postojeće zakonodavstvo orijentirano je prvenstveno na korištenje mulja u poljoprivredi te kao građevni materijal (Vouk i sur., 2011.). Mulj iz pročištača otpadnih voda nije bezvrijedan materijal, jer sadrži oko 70% organske tvari čija se energetska vrijednost može iskoristiti, odnosno uporabiti na razne načine. Jedan od načina je da ga se iskoristi na tlima lošije kvalitete koja uz nepovoljne agroklimatske uvjete ne mogu konkurirati u konvencionalnoj proizvodnji hrane. S obzirom na navedeno, kao optimalni način korištenja mulja nameće se njegova primjena na tlima za uzgoj energetskih kultura. Miskantus je upravo jedna od takvih kultura, koja zbog svojih skromnih gnojidbenih potreba i dobre otpornosti pripada skupini perspektivnih sirovina za proizvodnju biomase.

Cilj ovog rada je istražiti koliko će mulj u količini 1,66 t ha<sup>-1</sup> suhe tvari propisan Pravilnikom o gospodarenju muljem iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi (NN 38/08), imati utjecaj na energetske svojstva miskantusa.

## Materijal i metode

U ovom istraživanju analiziran je energetska sastav biomase miskantusa bez (kontrola) i nakon aplikacije mulja iz pročištača otpadnih voda u koncentraciji propisanoj Pravilnikom o primjeni mulja iz pročištača otpadnih voda u iznosu od  $1,66 \text{ t ha}^{-1}$  suhe tvari (NN 38/08). Riječ je o pokusnom polju miskantusa koje je postavljeno početkom svibnja 2011. godine reznicama rizoma na među redni razmak od jednog metra. Aplikacija mulja bila je u travnju 2019. godine na principu split plota u četiri ponavljanja s glavnim faktorom primjenom mulja otpadnih voda u dvije različite količine, kontrola od  $0 \text{ t ha}^{-1}$  te propisanih  $1,66 \text{ t ha}^{-1}$ . Korišten je mulj iz zagrebačkog pročištača otpadnih voda koji je stabiliziran na način da su u njemu uništeni patogeni organizmi, potencijalni uzročnici bolesti. Uzorci miskantusa uzeti su u studenom 2019. godine, prilikom jesenske žetve na lokaciji Centar za travnjaštvo na pokušalištu Agronomskog fakulteta na Medvednici. Svi laboratorijski postupci provedeni su u tri ponavljanja, a podaci su iskazani preko srednje vrijednosti suhe tvari. Biomasa je osušena prirodnim putem te usitnjena u laboratorijskom mlinu (IKA, Njemačka) nakon čega je standardnim metodama utvrđen: sadržaj pepela (ISO EN HRN 14775:2009), koks (ISO EN HRN 15148:2009), fiksiranog ugljika (računski) i hlapivih tvari (ISO EN HRN 15148:2009). Udio dušika, ugljika i vodika (HRN EN ISO 16948:2015) te sumpora (HRN EN ISO 16994:2015) određen je CHNS analizatorom (Analysensysteme GmbH, Njemačka), u skladu s protokolima za određivanje, dok se sadržaj kisika izračunao iz razlike. Ogrjevna vrijednost utvrđena je standardnom metodom (HRN EN 14918:2010) u AC600 kalorimetru (LECO, SAD). Na dobivenim rezultatima provedena je analiza varijance ANOVA, dok su razlike između srednjih vrijednosti testirane t-testom (5%) (SAS Institute, 2018.).

## Rezultati i rasprava

Kako bi neka vrsta sirovine postala izvor energije, potrebno je odrediti njenu ogrjevnu vrijednost kao i gorive i negorive komponente kroz sadržaj makroelemenata. U Tablici 1 prikazane su vrijednosti kojima se određuje kvaliteta biomase kroz sadržaj pepela, koks, fiksiranog ugljika i hlapivih tvari. Pepeo je anorganski negorivi dio koji preostaje nakon izgaranja biomase. Što je sadržaj pepela veći, smanjuje se vrijednost biogoriva (Jurišić i sur., 2017.). Iz Tablice 1 može se vidjeti kako se sadržaj pepela s 2,45% smanjio na 2,29%, što je u slučaju energetskih karakteristika biomase poželjan pad. Uspoređujući dobiveni rezultat s miskantusom gnojenim muljem u koncentraciji  $0 \text{ Mg ST ha}^{-1}$  gdje je sadržaj pepela s 2,33% porastao na 2,43% kod koncentracije  $10 \text{ Mg ST ha}^{-1}$ , što također nije pokazalo signifikantnu razliku (Kolodziej i sur., 2016.). Može se zaključiti da ukoliko i dođe do povećanja u sadržaju pepela kod primjene mulja, i ukoliko ona nije značajna, kao u navedenim primjerima, mulj i dalje pokazuje dobre karakteristike u gnojidbi energetskih usjeva.

Tablica 1. Prikaz srednjih vrijednosti određivanih energetskih svojstava miskantusa kontrole i nakon primjene  $1,66 \text{ t ha}^{-1}$  mulja

	Pepeo (%)	Koks (%)	Fix C (%)	Hlapive tvari (%)
Kontrola	2,45±0,40a	12,29±0,81a	9,85±1,09a	80,50±1,29a
Mulj $1,66 \text{ t ha}^{-1}$	2,29±0,17a	11,82±1,19a	9,53±1,10a	79,92±1,23a

Koks je tvar koja je poželjna u biomasi, on nastaje kao preostali dio nakon procesa u kojem dolazi do izgaranja gorivih, odnosno hlapivih tvari pod utjecajem vrlo visoke temperature (Voća i sur., 2018.). Promatrajući sadržaj koks u slučaju ovog istraživanja uočen je pad vrijednosti u iznosu 0,47%, što na kraju neće u velikoj mjeri narušiti kvalitetu biomase. Ako se dobiveni rezultat usporedi s rezultatima dobivenim na miskantusu gnojenim krutim stajskim gnojem, gdje je sadržaj koks prije gnojidbe iznosio 11,90%, a nakon  $10,73\%$ , što je pad od 1,17%, mulj ponovno pokazuje bolje predispozicije za gnojidbu energetskih

kultura u usporedbi s krutim stajskim gnojem (Geršić, 2016.). Fiksirani ugljik je kruti ostatak nakon gorenja, odnosno nakon otpuštanja hlapivih tvari (Peter i sur., 2019.). Kod važnijih energetskih kultura u Hrvatskoj sadržaj fiksanog ugljika iznosi 11,40% (Jurišić i sur., 2017.). Ako se pogleda utjecaj mulja na sadržaj ugljika u miskantusu koji je istraživan u ovom radu, tada se može zaključiti kako je on ipak nešto niži od prosječnih vrijednosti. Iz dosadašnjih istraživanja vidljivo je kako biomasa ima visok udio hlapivih tvari, te se vrijednosti kreću između 75-90% (Voća u sur., 2018.). Hlapive tvari se oslobađaju prilikom djelovanja na biomasu izrazito visokim temperaturama. Kod slučaja miskantusa koji je tretiran muljem, postotak hlapivih tvari nešto je nižih vrijednosti, no i dalje ulazi u prosjek hlapivih tvari biomase važnijih energetskih kultura u Hrvatskoj čije se vrijednosti kreću oko 77,58% (Jurišić i sur., 2017.). Ako se uspoređi sadržaj hlapivih tvari kod miskantusa bez primjene NPK mineralnog gnojiva (88,02%) i nakon primjene (89,32%), može se primijetiti rast od 1,31% što u slučaju hlapivih tvari nije poželjna pojava, pa se mulj i kod ovog mjeranog parametra pokazao kao bolji izbor (Geršić, 2016.). Nadalje, u Tablici 2 su prikazane donja i gornja ogrjevna vrijednost. Gornja vrijednost izražava količinu energije koja se otpušta prilikom potpunog izgaranja jedinice mase goriva, pri čemu se plinovi hlade na 25°C dok se voda iz njih izlučuje kao kondenzat. Rezultat dobiven prilikom ovog istraživanja pokazuje kako postoji značajna razlika u gornjoj ogrjevnoj vrijednosti kod kontrolnih biljaka i onih gnojenih muljem, točnije kulture bez mulja imale su vrijednost 17,44 MJ kg<sup>-1</sup>, dok one gnojene 17,73 MJ kg<sup>-1</sup>. Signifikantna razlika u ogrjevnoj vrijednosti uočena je i kod miskantusa u istraživanju gdje je korišten mulj u koncentraciji 10 Mg ST ha<sup>-1</sup> u odnosu na miskantus gdje nije primijenjen mulj. Na kontrolnim poljima gornja ogrjevna vrijednost iznosila je 18,2 MJ kg<sup>-1</sup>, a na biljkama gdje je korišten mulj 17,9 MJ kg<sup>-1</sup> (Kolodziej i sur., 2016.). Kod donje ogrjevne vrijednosti, kod plinova odnosno prilikom hlađenja voda tj. vlaga u njima ostaje u plinovitom stanju te toplina kondenzacije vodene pare ostaje neiskorištena. Vrijednosti dobivene prije i nakon primjene mulja iz pročistača otpadnih voda na miskantus u ovom istraživanju, pokazuju kako je razlika signifikantna te kako je količina mulja utjecala na ogrjevnu vrijednost miskantusa. Isti rezultat dobili su i znanstvenici u Poljskoj. Kod njih je miskantus gnojen različitim količinama mulja također davao signifikantnu razliku kod donje ogrjevne vrijednosti. Točnije biljke miskantusa koje nisu bile tretirane muljem imale su donju ogrjevnu vrijednost 5,69 MJ kg<sup>-1</sup>, dok je miskantus gnojen muljem u koncentraciji 100 kg N ha<sup>-1</sup> imao 5,92 MJ kg<sup>-1</sup>, a onaj gnojen s muljem 160 kg N ha<sup>-1</sup> iznosi je 6,01 MJ kg<sup>-1</sup> (Dubis i sur., 2020.).

Tablica 2. Prikaz gornje i donje ogrjevne vrijednosti miskantusa kontrole i nakon primjene 1,66 t ha<sup>-1</sup> mulja

	Gornja ogrjevna vrijednost (MJ kg <sup>-1</sup> )	Donja ogrjevna vrijednost (MJ kg <sup>-1</sup> )
Kontrola	17,44±0,29a	16,13±0,29a
Mulj 1,66 t ha <sup>-1</sup>	17,73±0,21b	16,40±0,21b

U svim vrstama goriva, pa tako i u biogorivima ugljik je najvažniji element. Njegov sadržaj određuje kvalitetu goriva i sukladno tome što je više ugljika to je kvaliteta goriva bolja (Vassilev i sur., 2010.). Odmah poslije ugljika, prema važnosti makroelemenata dolazi vodik. Oba navedena elementa prilikom oksidacije pripadaju egzotermnim reakcijama, što znači da oslobađaju toplinu čime se povećava ogrjevna vrijednost biomase (Paniagua i sur., 2017.). U Španjolskoj su muljem iz pročistača otpadnih voda gnojili topolu *Populus x*, a potom analizirali njegov utjecaj na energetske karakteristike kulture. Kod topole sadržaj ugljika prije korištenja mulja iznosio je 49,5%, a nakon 49,6%, dok je sadržaj vodika porastao s 5,80% na 5,95% (Paniagua i sur., 2017.). Ako se ti rezultati usporede s

miskantusom promatranim u ovom istraživanju, gdje se sadržaj ugljika povećao za samo 0,43%, jasno je kako mulj nije značajno utjecao na energetska svojstva miskantusa.

Biomasa uobičajeno, u usporedbi s fosilnim gorivima, ima manji sadržaj dušika i sumpora što ujedno znači i manje emisije štetnih plinova ( $\text{NO}_x$  i  $\text{SO}_2$ ) prilikom izgaranja (Bilandžija, 2017.). Dušik je negorivi element čime se smanjuje ogrjevna vrijednost goriva, dok je sumpor najslabije zastupljen element i gotovo se uvijek nalazi samo u tragovima unutar biomase (Matin i sur., 2013.). Iz Tablice 3 vidljivo je kako se sadržaj dušika smanjio za 0,04% prije i nakon aplikacije mulja na miskantusu. Usporedimo li dobiveni postotak sa sadržajem dušika kod miskantusa gnojnim krutim stajskim gnojem, gdje je prije aplikacije gnoja dušika bilo 0,35%, a nakon 0,42%, može se zaključiti kako je kruti stajski gnoj pridonio povećanju koncentracije dušika u biomasi (Geršić, 2016.).

Tablica 3. Prikaz srednjih vrijednosti makroelemenata miskantusa u kontroli i nakon primjene 1,66 t ha<sup>-1</sup> mulja

	C (%)	H (%)	N (%)	S (%)	O (%)
Kontrola	50,46±0,80a	6,01±0,04a	0,30±0,06b	0,06±0,01a	43,16±0,78a
Mulj 1,66 t ha <sup>-1</sup>	50,89±0,72a	6,09±0,04b	0,26±0,04a	0,06±0,00a	42,70±0,74a

## Zaključak

Na temelju provedenih fizikalno-kemijskih laboratorijskih analiza može se zaključiti:

1. Razlike u makroelementima i sadržaju pepela, koksa, fiksiranog ugljika, hlapivih stvari i ogrjevne vrijednosti nakon aplikacije Pravilnikom propisanih 1,66 t ha<sup>-1</sup> nisu značajne u ni jednom mjenom parametru.
2. Ukoliko razlike u mjenim parametrima nastave imati ovakav trend gdje nema značajnih razlika u vrijednostima, to ostavlja prostor za povećanje koncentracije apliciranog mulja na tlima gdje se uzgajaju energetske kulture.

## Napomena

Ovo istraživanje financirala je Hrvatska zaklada za znanost u okviru projekta br. IP-2018-01-7472, "Zbrinjavanje mulja kroz proizvodnju energetskih kultura" u okviru projekta „Projekt razvoja karijera mladih istraživača – izobrazba novih doktora znanosti“ uz su-financiranje od strane Europske unije, u okviru OP „Učinkoviti ljudski potencijali 2014-2020“ iz sredstava ESF-a.

This research was funded by the Croatian Science Foundation (HRZZ) under project No. IP-2018-01-7472 „Sludge management via energy crops’ production“, and within the project “Young Researchers’ Career Development Project – Training of Doctoral Students”, co-financed by the European Union, under the OP “Efficient Human Resources 2014-2020” from the ESF funds.

## Literatura

- Bilandžija N., Jurišić V., Voća N., Leto J., Matin A., Grubor M., Krička T. (2017). Energy Valorization Of M. giganteus Biomass: A Case Study In Croatia. Journal of processing and energy in agriculture. 21, 32-36.
- Dubis B., Jankowski K. J., Zaluski D., Sokolski M. (2020). The effect of sewage sludge fertilization on the biomass yield of giant miscanthus and the energy balance of the production process. Energy. 206 (2020), 118189.

- Geršić A. (2016). Energetske karakteristike trave *M. giganteus* ovisno o gnojidbenom tretmanu i roku žetve. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
- Jurišić V., Voća N., Bilandžija N., Krička T., Antonović A., Grubor M., Matin A., Kontek M. (2017). Pirolitička svojstva važnijih energetskih kultura u RH. 52. Hrvatski i 12. Međunarodni simpozij agronoma, Vila i Antunović (eds.), 651-655. Dubrovnik, Hrvatska. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku.
- Kolodziej B., Antonkiewicz J., Sugier D. (2016). *Miscanthus x giganteus* as a biomass feedstock grown on municipal sewage sludge. *Industrial Crops and Products*. 81, 72-81.
- Matin A., Krička T., Jurišić V., Bilandžija N., Voća N., Mrkšić J. (2013). Energetska iskoristivost ljske oraha i lješnjaka. 48 Hrvatski i 8. Međunarodni simpozij agronoma, Marić i Lončarić (eds.), 836-840. Dubrovnik, Hrvatska. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku.
- Paniagua S., Escudero L., Coimbra R.N., Escapa C., Otero M., Calvo L.F. (2017). Effect of Applying Organic Amendments on the Pyrolytic Behavior of a Poplar Energy Crop. *Waste and Biomass Valorization*. 9(8),1435–1449.
- Peter A., Dujmović Purgar D., Bukarica I., Grubor M., Voća N. (2019). Korištenje biomase invazivne biljne vrste cigansko perje (*Asclepias syriaca* L.) u proizvodnji energije. 54. Hrvatski i 14. Međunarodni simpozij agronoma, Bioč i Širić (eds.), 593-597. Vodice, Hrvatska. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, Hrvatska.
- SAS Institute 2018. SAS/STAT Software: Changes and enhancements through Rel. 6.12. Sas Inst., Cary, NC, USA.
- Singh R. P. and Agrawal M. (2011). Use of sewage sludge as fertiliser supplement for *Abelmoschus esculentus* plants: physiological, biochemical and growth responses. *International Journal of Environment and Waste Management*. 3(1-2), 91-106.
- Vassilev S. V., Baxter D., Vassileva C. G., Andersen L. K. (2010). An overview of the chemical composition of biomass. *Fuel*. 89, 913-933.
- Zakon o otpadu («Narodne novine» broj 178/04 i 111/06), Pravilnik o gospodarenju muljem iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi (NN 38/2008). Ministarstvo zaštite okoliša, prostornog uređenja i graditeljstva. 2.4.2008.
- Voća N., Krička T., Peter A., Grubor M., Matin A., Jurišić V. (2018). Energetska iskoristivost kore i sjemenke nara. 53. Hrvatski i 13. Međunarodni simpozij agronoma, Rozman i Antunović (eds.), 535-539. Vodice, Hrvatska. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku.
- Vouk D., Malus D., Tedeschi S. (2011). Muljevi s komunalnih uređaja za pročišćavanje otpadnih voda. *Građevinar*. 63(4), 341-349.

## Energy composition of *Miscanthus* after application of mud from wastewater treatment plant

### Summary

The problem of mud disposal from wastewater treatment plants on agricultural soil is in limiting application to soil which is not intended for food production. The use of mud in the farming of energy crops to take advantage of soils with bad quality is one of the solutions for mud disposal. The aim of this paper is to determine the differences in the energy value of *Miscanthus* after the application of the prescribed 1.66 t/ha of sludge. Analyses of combustible and non-combustible substances, calorific value, with monitoring of biomass income were performed. After the research, no significant differences in values important for the energy efficiency of biomass were observed.

**Key words:** *Miscanthus*, mud, energy properties of biomass



## Upotreba robota u poljoprivredi

Domagoj Zimmer, Mladen Jurišić, Luka Šumanovac, Pavo Lucić

*Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska (dzimmer@fazos.hr)*

### Sažetak

Tehnologija razvoja robota svakim danom pomiče granice svoje primjene. Poljoprivreda je pored automobilske industrije jedna od vodećih grana razvoja robotike i njene primjene. U radu je pojašnjen princip rada robota i prikazani su različiti oblici robota koji pomažu poljoprivrednicima u ratarstvu i povrtlarstvu. Osim primjene robota, prikazana je ukupna ušteda u proizvodnji, ušteda kemijskih sredstava za zaštitu bilja i eksploatacijski učinak.

**Ključne riječi:** roboti, kontroleri, robotski sustavi

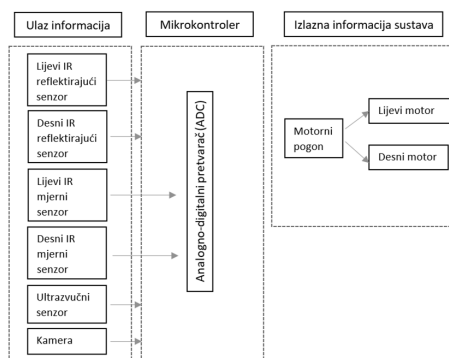
### Uvod

Poljoprivredni robot je robot koji obavlja određene ili sve poslove u poljoprivredi. Područja primjene robota u poljoprivredi su različita. Glavne odlike primjene robota su manji troškovi proizvodnje i manja potreba za fizički rad ljudi (Oljača i sur., 2014. i Jelovčan i sur., 2020.). Robot obično podrazumijeva elektromehanički stroj koji se može kretati, izvoditi operacije pomoću članka udova, osjećati vanjske podražaje i fizički utjecati na svoju okolinu (Zutven i sur., 2009.). Lapov-Padovan i sur. (2018.) smatraju da je robotika grana inženjerske znanosti i tehnologije. Robotika objedinjuje mehaniku, elektroniku, računarstvo, informacijske sustave i automatiku. Osnovna je podjela robota prema stupnju samostalnosti: industrijski roboti i autonomni mobilni roboti. Crneković (2014.) i Kasać (2015.) navode da su osnovni dijelovi robota kontrolna jedinica, upravljački softver, aktuatori (najčešće elektromotori) i senzori. Upotrebljavajući senzore opremljeni robot omogućuje kreiranje karata u biljnoj proizvodnji (Zimmer i sur., 2020.). Na tržištu već postoje razni roboti koji su programirani i specijalizirani za branje određenih vrsta i usjeva te su uspjeli zamijeniti ljudsku radnu snagu, međutim robotika se mora i dalje usavršavati i unaprjeđivati za obavljanje složenih zadataka. Cilj razvitka robotike je osiguranje podrške ljudskoj radnoj snazi prilikom branja, što u konačnici dovodi do povećane produktivnosti (Stajanko, 2014.). Robotske tvrtke usmjerene su na poljoprivredni rast, obzirom na to da će svjetska populacija do 2050. godine dosegnuti oko 10 milijardi, nužno je prehraniti što više ljudi uz što manju potrošnju resursa, a primjena robota i robotske automatizacije to omogućuje (Beacher i Vigneault, 2016.). Poljoprivredni roboti mogu biti autonomni ili poluautonomni sustavi koji se mogu kretati u različitim tokovima procesa kod obavljanja složenih problema. Roboti u poljoprivredi su integrirani s visokim postotkom uspjeha u izvršavanju, ponavljajućih zadataka kako bi smanjili radno opterećenje ljudi i optimizirali vrijeme i troškove u vezi s pripremom tla (Lapov-Padovan i sur. (2018.), navodnjavanjem, zaštitom bilja (Zimmer i sur., 2020., Yaghoubi i sur., 2013., Adamides i sur., 2017.a, Adamides i sur., 2017.b), rezidbom (Moreno i sur., 2018.), berbom (Oberti i sur., 2013., Akbar i sur., 2016., Bac i sur., 2014., De-An i sur., 2011.), nadzor i kontrolu (Nuske i sur., 2011.a, Nuske i sur., 2011.b, Corollaro i sur., 2014., Donis-González i sur., 2016., Lunadei i sur., 2012., Munera i sur., 2017.) i mapiranje (Pace i sur., 2011.). Dael i sur., 2017. navode da nakon samo godinu dana, uvođenje robota u proizvodne procese je proizvodno i financijski opravdano. Prema (Cheein i sur., 2011., Lukenda 2015., Noguchi i sur., 2014., Schueller 2006.), automatizacija je

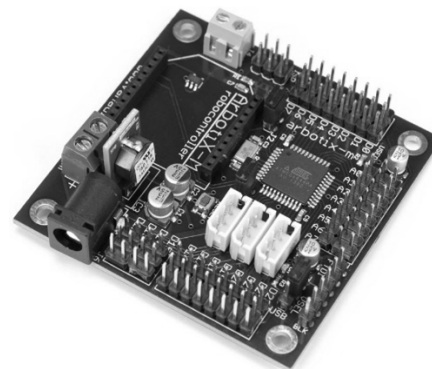
rezultirala povećanom produktivnošću poljoprivrednih strojeva što je rezultat veće razine učinkovitosti, pouzdanosti i preciznosti te smanjenja ljudske intervencije.

### Princip rada robota

Roboti rade na principu mobilnosti i prikupljanja podataka upotrebom senzora (Slika 1.). Mobilnost robota se kontrolira daljinskim upravljačem, koji je odašiljač radio frekvencijskog signala. Daljinski upravljač se sastoji od tipkovnice spojene na 8-bitni mikrokontroler AT89C2051. Emiter prenosi podatke koje proizvodi mikrokontroler. Mikrokontroler radio frekvencijskog prijemnika 89C51 ugrađen je u robota te dekodira podatke poslana daljinskim upravljačem. Cijeli se robot napaja baterijom koja proizvodi + 5V napona za mikrokontroler i + 12V napona za pokretanje (Nepalla, 2018.). Robot se sastoji od istosmjernih motora koji omogućuju njegovu pokretljivost i upotrebu radio frekvencijskog prijemnika podataka. Za kretanje robota nužni su senzori i kontrole pomoću kojih se može kretati u nepoznatom okruženju (okruženje koje nije programirano). Glavni dijelovi svakog robota su: senzori, kontroleri (CPU-središnja jedinica za obradbu), pogon/aktuatori (pretvarači) i krajnji izvršni elementi. Prikupljeni podaci iz senzora šalju se u obliku elektroničkog signala u CPU računalo i time se omogućuje kretanje upotrebom robotskog upravljača. Često ugrađivani jeftiniji (low-cost) senzori u robotici su: mikrofona, ultrazvučni senzor, akustični vektorski senzor, kamera, infracrveni senzor i senzor za otkrivanje određenih kemikalija i plinova. Prema (poveznica 1.) istraživači iz MIT laboratorija za računalne znanosti i umjetnu inteligenciju (CSAIL) razvili su novi sustav koji bi robote mogao opremiti sposobnošću povezivanja više osjetila. Novi sustav koji je stvorio CSAIL uključuje prediktivnu umjetnu inteligenciju koja je u stanju naučiti kako vidjeti koristeći svoj "osjećaj" dodira i obrnuto. CPU računalo (Slika 2.) je „mozak“ robota. Podržava vezu između robota i drugih sustava kako bi mogao surađivati s drugim uređajima, procesima ili robotima.

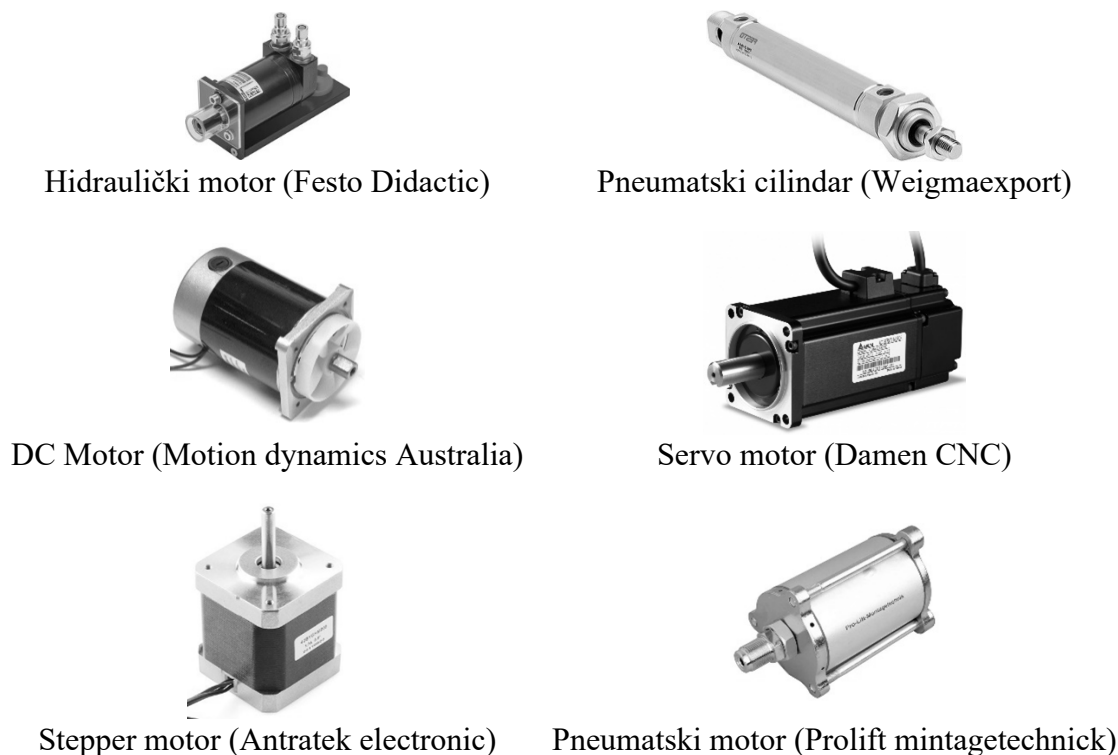


Slika 1. Načelo rada robota  
(Izvor: Alajlan)



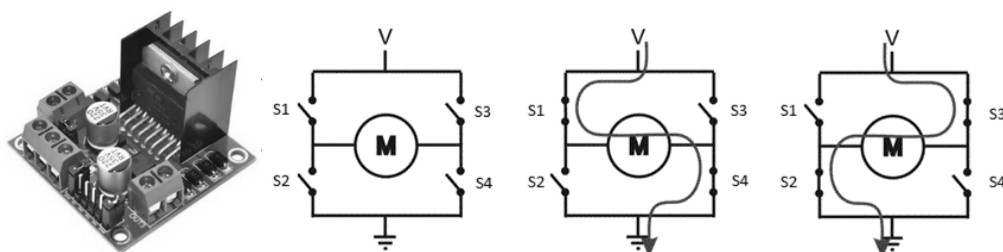
Slika 2. Mikrokontroler  
(Izvor: <https://www.interbotix.com/robotix-robocontroller>)

Pogon (aktuator) je mehanički uređaj koji proizvodi gibanje te pripada osnovnom esencijalnom dijelu robota. Aktuatori uglavnom imaju mogućnost upravljanja brzinom i položajem. Budućnost robotike u velikoj će se mjeri oslanjati na aktuatore s kontrolom sile/momenta. Prilagođenom kontrolom sile/zakretnog momenta postiže se manipulacija krhkim predmetima, kao što to ljudi mogu učiniti (poveznica 2.). Najčešće vrste aktuatora koje se koriste kod robota su: hidraulični, pneumatski, istosmjerni i servomotor, kao i stepenik (Slika 3.).



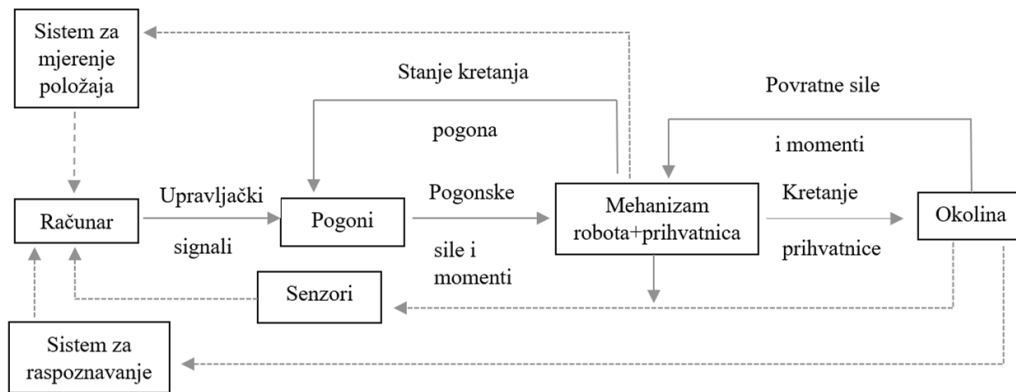
Slika 3. Aktuatori

Svaki robot se sastoji od istosmjernih motora (DC motori) koji su povezani elektroničkim strujnim krugom naziva „H-bridge“ odnosno H-mosta. Koristeći strujni krug sa H-mostom omogućuje se nagla promjena polariteta napona što na kraju ostvaruje kretanje istog motora naprijed ili nazad i to uključivajući i isključivajući sklopke S1-S4 (Slika 4.).



Slika 4. Kontroler dual motora (lijevo), kombinacije stanja prekidača (desno) (eradionica)

Robotska ruka je dio robota koji postavlja krajnje efektore korištenjem senzora za izvršavanje unaprijed programiranih zadataka poput ubiranja ploda. Robotska ruka ima humanoidni oblik i ima rame, lakat, zglobov i prste. Krajnji efektori su posljednja veza robota (tj. kraj) robota. Krajni izvršni elementi mogu biti razni te ovise o proizvodnji i potrebi poljoprivrednika, pa tako mogu biti: vakuumska pumpa, ruka s prstima za dohvatanje/ubiranje ploda, alat za orezivanje i slično. Sve češća upotreba robota u poljoprivredi je kod obavljanja zaštite bilja zbog upotrebe kemijskih sredstava, primjena robota za rad po noći ili u uvjetima lošije vidljivosti. Svaki robot sastoji se od mikrokontrolera i nekog uređaja za unos podataka poput tipkovnice, baterije, DC motora, radiofrenkvencijskog prijemnika, pneumatskog kompresora, spremnika za zrak, kotača/gusjenice i okvira/platforma na kojoj je sve postavljeno. Na blok shemi prikazan je princip rada robota (Slika 5.).



Slika 5. Blok shema rada robota (Izvor: Velagić, 2011.)

## Rezultati i rasprava

Primjenom robota u poljoprivredi osim visoke učinkovitosti, uštede ljudskog resursa i zdravlja omogućuje se stvaranje skorašnjih farmi budućnosti gdje je poljoprivrednik samo prisutan zbog kontrole robota. Usavršavanjem robotike u poljoprivredi omogućiti će se upotreba otvorene i sve pristupačnije tehnologije koja će biti primjenjiva na otvorenim, zatvorenim prostorima i pokrivenim prostorima. Jedan od preciznih poljoprivrednih robota je *FarmBot* (slika 6. lijevo). To je robot sijačica koji se sastoji od stroja, softvera i dokumentacije, uključujući i spremište podataka. Trenutno je u projektnoj izradi. Također, robot u izradi kroz izraelski start-up je *Metomotion* (Slika 6. desno). To je višenamjenski robotski sustav za obavljanje radno intenzivnih zadataka u zaštićenim prostorima sa ciljem uštede ukupnih troškova koji u plasteničkoj proizvodnji iznose od 30-50 % (poveznica 3.). Za uspješno suzbijanje korova francuski robot ARA je autonomni roboti na solarni pogon kojima se korov uništava uz učinkovitiju i održiviju upotrebu herbicida (slika 7.lijevo). Osim upotrebe herbicida učinkovit pristup suzbijanju korova je ostvaren upotrebom laserske zrake kod hrvatskog startup-a Crop Shepherd koji je razvija robot pod nazivom Pastir (Slika 7. desno).

Slika 6. FarmBot robot (lijevo) (Izvor: <https://thespoon.tech/farmbot>), Metomotion (Izvor: <https://metomotion.com/>)

Za procjenu razine stanja bolesti kod biljaka kroz detekciju lista koristi se robot Asterix. To je potpuno automatizirani poljoprivredni robot koji koristi neuronsku mrežu za mapiranje svog puta oko korova i usjeva. Asterix (Slika 8. lijevo) koristi tehnologije: machine vision (strojni vid) i Artificial Neural Network (Umjetna neuronska mreža). Razlikovanje korova i usjeva kod Asterix robota je prikazano na Slici 8. (desno). Kod održavanja malih vrtova upotrebljava se autonomni robot Oz (Slika 9. lijevo) francuskog start-upa Naïo Technologies, dok je za potrebe održavanja povrtlarskih kultura optimalan robot Dino (Slika 9. desno) istog proizvođača. Dino se koristi na raznim kulturama kao što su salata, rajčica, češnjak, kupus, papar i celer i u različitim uvjetima tla.



Slika 7. Robot Ara (lijevo) (Izvor: [https://www.ecorobotix.com/en/ara\\_mounted\\_sprayer/](https://www.ecorobotix.com/en/ara_mounted_sprayer/)), Robot Pastir (desno) (Izvor: <https://www.cropshepherd.com>)



Slika 8. Robot Asterix (lijevo) i razlikovanje korova i usjeva (desno) (Izvor: <https://www.asterixproject.tech>)



Slika 9. Robot Oz (lijevo) i Dino (desno) (Izvor: <https://www.naio-technologies.com/en/home>)

Uočava se kako se troškovi instaliranja i pokretanja industrijskog robota (robot, hardver, periferni uređaji i integracija sustava) smanjuju. Padom cijena komponenti, poboljšanje tehnologije i mobilnosti u kombinaciji s napretkom umjetne inteligencije dovode do rastućeg tržišta „robota radnika“. Prema Paić (2020.) samo su velike tvrtke upošljavale robote, zbog visokih kapitalnih troškova, velikog utroška vremena i stručnosti potrebne za programiranje robota za obavljanje određenih zadataka. Ovi su faktori rezultirali niskom stopom usvajanja od strane malih i srednjih poduzeća, koji čine gotovo 70 % proizvođača u svijetu (poveznica 4.). Pedersen i sur. (2006.) u svojim istraživanjima ukazuju da upotrebom robota se ostvaruje ušteda troškova herbicida s 30 na 75 %. Roboti za uklanjanje korova ovisno o tipu i metodi suzbijanja korova mogu ukloniti više od 100.000 korova na sat i obraditi 15 do 20 hektara u jednom danu što je usporedbom sa ručnom kultivacijom potrebno više tjedana rada.

## Zaključak

Prelazak konvencionalne mehanizacije na robote je moguć uz sistemsku promjenu cijelog gospodarstva. Nužno je usavršiti ophođenje radnika sa robotima te početi koristiti modele zajedničkog korištenja/nabavke ili uzimanja usluge. Visoko specijalizirani roboti

komercijalizirali bi se samo za relativno velika tržišta i/ili usjeve visoke vrijednosti. Najčešće primjene robota su kod sjetve/sadnje, berbe, kontrole korova i planiranju (*scouting*). Roboti koji samostalno uklanjaju korov sa ciljem eliminacije uporabom herbicida i roboti koji na temelju informacija ugrađenih senzora uočavaju pojedinačne korove u redovima kulture na polju i ciljano apliciraju ostvaruju uštedu herbicida i do 95 %. Eksploatacijski učinak Ara robota kod suzbijanja korova je 96 ha/dan. Cijene robota postaju sve niže, tako da je njihova primjena s originalnim inovativnim rješenjima dostupna općoj populaciji. Raznim istraživanjima potvrđeno je kako sa velikim ulaznim troškovima pri nabavi robota se i dalje uočava bolje funkcioniranje gospodarstva nego sa ručnim radom. Robotika usjeva utjecat će na tržišta rada, strukturu poljoprivrednih gospodarstava i poljoprivrednu politiku.

## Literatura

- Adamides, G., Katsanos, C., Constantinou, I., Christou, G., Xenos, M., Hadzilacos, T., Edan, Y. (2017a). Design and development of a semi-autonomous agricultural vineyard sprayer: Human-robot interaction aspects. *Journal of Field Robotics*. 34(8), 1407-1426.
- Adamides, G., Katsanos, C., Parmet, Y., Christou, G., Xenos, M., Hadzilacos, T., Edan, Y. (2017b). HRI usability evaluation of interaction modes for a teleoperated agricultural robotic sprayer. *Applied ergonomics*. 62, 237-246.
- Akbar, S. A., Chattopadhyay, S., Elfiky, N. M., & Kak, A. (2016). A novel benchmark RGBD dataset for dormant apple trees and its application to automatic pruning. In *Proceedings of the IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition Workshops* (pp. 81-88).
- Alajlan, A., Elleithy, K., Almasri, M., Sobh, T. (2017). An optimal and energy efficient multi-sensor collision-free path planning algorithm for a mobile robot in dynamic environments. *Robotics*. 6(2), 7.
- Bac, C. W., Henten, E. J., Hemming, J., Edan, Y. (2014.). Harvesting robots for high-value crops: State-of-the-art review and challenges ahead. *Journal of Field Robotics*. 31(6), 888-911.
- Bechar, A., Vigneault, C. (2016). Agricultural robots for field operations: Concepts and components, *Biosystems Engineering*. 149, 94-111.
- Cheein, F. A., Steiner, G., Paina, G. P., Carelli, R. (2011.). Optimized eif-slam algorithm for precision agriculture mapping based on stems detection. *Computers and Electronics in Agriculture*. 78(2), 195-207.
- Corollaro, M. L., Aprea, E., Endrizzi, I., Betta, E., Demattè, M. L., Charles, M., Costa, F., Biasioli, F., Corelli, L., Gasperia, F. (2014): A combined sensory-instrumental tool for apple quality evaluation. *Postharvest Biology and Technology*. 96, 135-144.
- Crneković, M. (2014). Industrijski i mobilni roboti. Interna skripta, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.
- Dael, M., Verboven, P., Dhaene, J., Hoorebeke, L., Sijbers, J., Nicolai, B. (2017). Multisensor x-ray inspection of internal defects in horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*. 128, 33-43.
- De-An, Z., Jidong, L., Wei, J., Ying, Z., Yu, C. (2011). Design and control of an apple harvesting robot. *Biosystems engineering*, 110(2), 112-122.
- Donis-González, I. R., Guyer, D. E., Pease, A. (2016). Postharvest noninvasive assessment of undesirable fibrous tissue in fresh processing carrots using computer tomography images. *Journal of Food Engineering*. 190, 154-166.
- Jelovčan, S., Galzina, N. (2020). Budući izazovi i trendovi u poljoprivrednoj proizvodnji, *Glasilo biljne zaštite*. 20 (5), 512-520.
- Kasać, J. (2015.): Neizravno i digitalno upravljanje. Interna skripta, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.
- Lapov Padovan, Z., Kovačević, S., Purković, D. (2018). Razvoj kurikuluma osnovnoškolske nastave robotike, Sveučilište u Rijeci. *Polytechnica: Journal of Technology Education*. 2 (1), 7-34.
- Lukenda, D. (2015). Ekonomska opravdanost uvođenja robota u proces proizvodnje, *Diplomski rad, Grafički fakultet, Zagreb*.
- Lunadei, L., Diezma, B., Lleo, L., Ruiz-Garcia, L., Cantalapiedra, S., Ruiz-Altisent, M. (2012). Monitoring of fresh-cut spinach leaves through a multi-spectral vision system. *Postharvest Biology and Technology*. 63(1), 74-84.
- Moreno, F. A., Cielniak, G., & Duckett, T. (2013). Evaluation of laser range-finder mapping for agricultural spraying vehicles. In *Conference Towards Autonomous Robotic Systems* (pp. 210-221). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Munera, S., Besada, C., Blasco, J., Cubero, S., Salvador, A., Talens, P., Aleixos, N. (2017). Astringency assessment of persimmon by hyperspectral imaging. *Postharvest Biology and Technology*. 125, 35-41.
- Noguchi, N., Will, J., Reid, J., Zhang, Q. (2004). Development of a master-slave robot system for farm operations. *Computers and Electronics in agriculture*. 44(1), 1-19.
- Nuske, S., Achar, S., Bates, T., Narasimhan, S., Singh, S. (2011a). Yield estimation in vineyards by visual grape detection, In 2011 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems, 2352-2358.
- Nuske, S., Achar, S., Gupta, K., Narasimhan, S. G., Singh, S. (2011b). Visual yield estimation in vineyards: Experiments with different varieties and calibration procedures.
- Oberti, R., Marchi, M., Tirelli, P., Calcante, A., Iriti, M., Hočevar, M., Baur, J., Pfaff, J., Schütz, C., Ulbrich, H. (2013). Selective spraying of grapevine's diseases by a modular agricultural robot. *Journal of Agricultural Engineering*. 44(s2).
- Oljaca, M., Gligorevic, K., Pajic, M., Dimitrovski, Z. (2014). Primena mobilnih robota u poljoprivredi. *17. Naučno stručni skup sa međunarodnim učešćem, Aktuelni problemi mehanizacije poljoprivrede*, Pajić i Miloš (eds.), 104-120, Poljoprivredni fakultet, Beograd, Srbija.
- Pace, B., Cefola, M., Renna, F., Attolico, G. (2011). Relationship between visual appearance and browning as evaluated by image analysis and chemical traits in fresh-cut nectarines. *Postharvest Biology and Technology*. 61(2-3), 178-183.
- Paić E. (2020). Utjecaj automatizacije i robotizacije na tržište rada, Diplomski rad. Sveučilište u Splitu, Ekonomski fakultet, Split, Hrvatska.
- Pedersen, S. M., Fountas, S., Have, H., Blackmore, B. S. (2006). Agricultural robots-system analysis and economic feasibility. *Precision Agriculture*, 7(4), 295-308.
- Schueller, J. K. (2006): CIGR handbook of agricultural engineering (6), 46.
- Stajanko, D. (2014). Strojevi za pomoć u berbi jabuka – stanje i perspektive, *Glasnik zaštite bilja*. 37(5), 14-19.
- Van Zutven, P., Kostic, D., Nijmeijer, H. (2009). Modeling, identification and stability of humanoid robots, DCT 2009.100, Eindhoven University of Technology, Eindhoven, Holland.
- Velagić, J. (2011): Uvod u robotiku, Interni materijali – skripta, Univerzitet u Tuzli, Fakultet elektrotehnike, Bosna i Hercegovina.
- Yaghoubi, S., Akbarzadeh, N. A., Bazargani, S. S., Bazargani, S. S., Bamizan, M., Asl, M. I. (2013). Autonomous robots for agricultural tasks and farm assignment and future trends in agro robots. *International Journal of Mechanical & Mechatronics Engineering*. 13(3), 1-6.
- Zimmer, D., Jurišić, M., Plaščak, I., Radočaj, D. (2020). Primjena robota i robotski sustava u poljoprivrednoj praksi, *13 international scientific/professional conference Agriculture in nature and environment protection*, Jug (ed.). 356-361. Osijek, Hrvatska: Glas Slavonije.
- Poveznica 1. MIT develops a system to give robots more human senses <https://techcrunch.com> (15.06.2021.)
- Poveznica 2. Actuators for robotic applications <http://www.iit.it> (10.03.2021.)
- Poveznica 3. New tomato harvest robot GRoW being tested in the greenhouse <https://www.hortidaily.com/article/44122/New-tomato-harvest-robot-GRoW-being-tested-in-the-greenhouse/> (10.03.2021.)
- Poveznica 4. Top 5 Robot Trends 2021 <https://ifr.org/> (10.03.2021.)

## Use of robots in agriculture

### Summary

Robot development technology is pushing the boundaries of its application every day. In addition to the automotive industry, agriculture is one of the leading branches of robotics development and its application. The paper explains the working principle of robots and presents various forms of robots that help farmers in farming and horticulture. In addition to the application of robots, the total savings in production, the savings of chemical plant protection products and the exploitation effect are shown.

**Key words:** robots, controllers, robotic systems