

Utjecaj cinkovog oksida (ZnO) i cinkovog sulfata (ZnSO₄) na razvoj ploda jagode

Cukrov, Marin

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:990579>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**UTJECAJ CINKOVA OKSIDA (ZnO) I CINKOVA
SULFATA (ZnSO₄) NA RAZVOJ PLODA JAGODE**

DIPLOMSKI RAD

Marin Cukrov

Zagreb, ožujak 2018.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:
Hortikultura: Povrćarstvo

**UTJECAJ CINKOVA OKSIDA (ZnO) I CINKOVA
SULFATA (ZnSO₄) NA RAZVOJ PLODA JAGODE**

DIPLOMSKI RAD

Marin Cukrov

Mentor: izv. prof. dr. sc. Boris Duralija

Zagreb, siječanj, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Marin Cukrov**, JMBAG: 0240002073, rođen 12.11.1992. u Šibeniku, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ CINKOVA OKSIDA (ZnO) I CINKOVA SULFATA (ZnSO₄) NA RAZVOJ PLODA
JAGODE

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Marin Cukrov**, JMBAG: 0240002073, naslova

**UTJECAJ CINKOVA OKSIDA (ZnO) I CINKOVA SULFATA (ZnSO₄) NA RAZVOJ
PLODA JAGODE**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|------------------------------------|--------|-------|
| 1. | izv. prof. dr. sc. Boris Duralija | mentor | _____ |
| 2. | doc. dr. sc. Jana Šic Žlabur | član | _____ |
| 3. | prof. dr. sc. Mirjana Herak Čustić | član | _____ |

*Za mog djeda, koji mi je usadio ljubav prema biljkama.
Za mog oca, koji je potaknuo znatiželju u meni.
Za moju majku i baku koje su mi sve omogućile.*

ZAHVALA

Ovim se putem zahvaljujem svom mentoru, prof. dr. sc. Borisu Duraliji na susretljivosti, trudu i realizaciji ovog diplomskog rada. Posebnu zahvalnost dugujem doc. dr. sc. Jani Šic Žlabur na pomoći i mentorstvu kroz brojne laboratorijske analize, kao i njenoj suradnici gđi. Martini Krilčić.

Nadalje, zahvaljujem se gospodinu Božidaru Hrenkoviću na ustupku njegovog proizvodnog nasada za potrebe ovog diplomskog rada. Dužan sam zahvaliti se i Agronomskom fakultetu u cjelini na dvije najljepše godine mog obrazovanja. Konačno, zahvalan sam carstvu biljaka na neiscrpnom izvoru zanimljivosti i spoznaje.

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1. Cilj rada	2
2. Pregled literature	3
2.1. Botanička pripadnost, morfološke karakteristike i kemijski sastav jagode.....	3
2.2. Uloga cinka u biljci	4
3. Materijali i metode	7
3.1. Opis biljnog materijala	7
3.2. Opis istraživanja	7
3.3. Metode	10
4. Rezultati i rasprava	12
4.1. Tvrdća ploda	12
4.4. Količina topljive suhe tvari ploda.....	19
4.5. Količina vitamina C (askorbinska kiselina)	22
4.6. Količina ukupnih fenola i flavonoida	24
4.7. Količina ukupnih neflavonoida	30
4.8. Količina ukupnih antocijana.....	32
4.9. Antioksidacijski kapacitet	34
5. Zaključci.....	37
6. Popis literature	38
Životopis.....	46

Sažetak

Diplomskog rada studenta Marina Cukrova, naslova

UTJECAJ CINKOVA OKSIDA (ZnO) I CINKOVA SULFATA (ZnSO₄) NA KVALITETU PLODA JAGODE

Cink je mikroelement esencijalan za pravilno odvijanje staničnog metabolizma. Sudjeluje u procesima poput sinteze proteina, replikacije DNK, aktivacije enzima, antioksidacije slobodnih radikala te regulacije metabolizma ugljikohidrata. Dvije cinkove soli te tri različite koncentracije cinka (25, 75 i 150 mg/L ZnO i 50, 150 i 300 mg/L ZnSO₄) primijenjene su s ciljem utvrđivanja njegovog utjecaja na kvalitetu ploda jagode. Biljke tretirane s obje soli (ZnO i ZnSO₄) ostvarile su značajno veću tvrdoću ploda povećanjem koncentracije cinka od biljaka kontrolne skupine tijekom sve tri berbe. Starenjem biljaka tvrdoća ploda je opadala, no tretmani cinkovim solima usporili su negativan trend. Količina suhe tvari značajnije je rasla pod utjecajem cinkova oksida (ZnO) tijekom druge i treće berbe pri koncentracijama od 25 i 150 mg/L. Veće koncentracije ZnO (75 i 150 mg/L) rezultirale su smanjenjem količine ukupnih kiselina tijekom posljednje berbe dok su tretmani sa 150 i 300 mg/L ZnSO₄ zabilježili najveće vrijednosti. Količina topljive suhe tvari rasla je tijekom prve dvije berbe kod biljaka tretiranih s 50 i 300 mg/L ZnSO₄. Cinkov sulfat značajnije je utjecao na količinu vitamina C a tretmani s 300 mg/L ostvarili su najveće rezultate tijekom prve dvije berbe. Koncentracije cinkova sulfata od 150 i 300 mg/L rezultirale su najvećom količinom ukupnih fenola i flavonoida. Istovremeno kod tretmana cinkovim oksidom (ZnO) zabilježena je veća količina neflavonoida. Tretmani cinkovim sulfatom negativno su utjecali na količinu ukupnih antocijana, a obje soli nisu značajnije utjecale na antioksidacijski kapacitet ploda jagode.

Ključne riječi: cink, jagoda, kvaliteta ploda, bioaktivni spojevi

Summary

Of the master's thesis – student Marin Cukrov, entitled

EFFECT OF ZINC OXIDE (ZnO) AND ZINC SULPHATE (ZnSO₄) ON STRAWBERRY FRUIT QUALITY

Zinc is an essential microelement, indispensable for normal functioning of cellular metabolism. It partakes in various physiological and biochemical processes such as protein synthesis, DNA replication, enzyme activation, antioxidation and carbohydrate metabolism. Two zinc-based salts and three different concentrations of zinc (25, 75 i 150 mg/L ZnO i 50, 150 i 300 mg/L ZnSO₄) were applied with an objective to determine effect of zinc on strawberry fruit quality. Plants treated with both ZnO and ZnSO₄ recorded an increase in fruit firmness on every harvest. As plants aged, fruit firmness decreased, but treatments with both salts managed to slow down the adverse effects of aging. Fruit dry matter content increased under treatments with 25 and 150 mg/L ZnO during second and third harvest respectively. Treatments with 150 and 300 mg/L ZnSO₄ induced highest total acids content. Total soluble solids were significantly affected during the first harvest by concentrations of 50 and 300 mg/L ZnSO₄. Zinc sulphate largely affected total ascorbic acid content with concentrations of 150 and 300 mg/L during the first two harvests. Treatments with 150 and 300 mg/L ZnSO₄ resulted with highest fruit phenolic, as well as flavonoid content throughout the first two harvests. Meanwhile treatments with zinc oxide recorded a larger non-flavonoid content than its sulphate counterpart. Zinc sulphate treatments negatively affected total anthocyanin content. Furthermore, both salts did not record a significant effect on fruit antioxidative capacity.

Keywords: zinc, strawberry, fruit quality, bioactive compounds

1. Uvod

Cink je esencijalni mikroelement od presudne važnosti za pravilan rad staničnog metabolizma (Grüngreiff i sur., 2016). Procesi poput sinteze proteina, replikacije DNK, aktivacije enzima, antioksidacije slobodnih radikala te regulacije metabolizma ugljikohidrata bili bi neodrživi bez ovog elementa. Upravo se zbog uključenosti u spomenute fiziološke procese, nedostatak cinka smatra jednim od važnijih oblika nutritivnog stresa (Rehman i sur., 2012). Usvajanje cinka ograničeno je na vapnenačkim tlima veće pH vrijednosti a gnojidba usredotočena isključivo na makroelemente, zanemarujući mikrohraniva, rezultira iscrpljivanjem zaliha cinka iz tla. Uz navedeno, smanjenu dostupnost dodatno potencira antagonizam cinkovih i fosfornih iona te manjak organske tvari u tlu. Nedostatak cinka u tlima ograničava stupanj ekspresije gena te onemogućava biljke da ostvare svoj puni genetski potencijal. Slabija prilagodljivost i otpornost prema brojnim abiotskim i biotskim čimbenicima, smanjenjena proliferacija staničja i enzimatska aktivnost, poremećaji u metabolizmu proteina i ugljikohidrata te sintezi biljnih hormona posljedice su nedostatka cinka. Intenzifikacija agrarne proizvodnje negativno je utjecala na dostupnost svih mikroelemenata pa tako i cinka (Alloway i sur., 2008) a posljednjih godina brojna istraživanja pokazuju kakav je to učinak imalo na ljudsko zdravlje (Roohani i sur., 2013). Nedostatak cinka povezan je s kroničnim bolestima jetre (Grüngreiff i sur., 2016) i bubrega (Lobo, 2009), smanjenom aktivnošću hipofize i imunostava (Prasad i sur., 2012) te kognitivnim poremećajima hipokampusu (Hu i sur., 2017). Nadalje, ustanovljen je stimulativan utjecaj cinka na sintezu sekundarnih biljnih metabolita i bioaktivnih spojeva korisnih za ljudski metabolizam (Kazemi, 2015; Song i sur., 2015). Bioaktivne spojeve poput vitamina C, fenola, flavonoida i antocijana karakterizira izražena antioksidacijska aktivnost. Budući da su navedeni spojevi sposobni spariti elektrone slobodnih radikala, aktivirati antioksidacijske enzime te inhibirati oksidaze, jasna je njihova zdravstvena važnost za ljudski organizam (Cukrov i sur., 2017). Kako bi se minimalizirao negativan efekt “skrivenog nedostatka“ cinka u tlu, te potencirao pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje, potrebno je detaljno istražiti zahtjeve kultura za ovim elementom. Također, potrebno je usporediti različite oblike cinkovih soli s kojima je moguće postići optimalne koncentracije cinka u uzgojnom mediju a time i u biljnom tkivu. Voćne vrste poput crnog ribiza, kupina, malina i jagoda bogat su izvor cinka i spomenutih bioaktivnih spojeva (Nile, 2014). Brojna istraživanja dokazuju pozitivan utjecaj cinka na urod, vegetativni razvoj te reproduktivne organe jagode (Lieten, 2003; Chaturvedi i sur., 2005; Kazemi i sur., 2014; Rafeii i sur., 2014; Kumar i sur., 2017). Međutim, istraživanja utjecaja cinka na kvalitetu ploda jagode često su fokusirana isključivo na primarni fizikalni i kemijski sastav (veličina ploda, količina suhe tvari, ukupnih šećera, kiselina i sl.), zanemarujući količinu bioaktivnih komponenti ploda. Stoga se značajan dio ovog istraživanja osvrće na količinu spomenutih spojeva budući da nova saznanja potvrđuju pozitivan utjecaj cinka na ekspresiju gena koji reguliraju sintezu bioaktivnih spojeva (Song i sur., 2015).

Prema dosadašnjim saznanjima, neke od navedenih karakteristika moguće je značajno stimulirati pravilnom manipulacijom ishrane cinkom, ovisno o fenofazi biljke (Yadav i sur., 1985; Zhang i sur., 2013; Kazemi, 2015; Song i sur., 2015). Poznavanjem zahtjeva jagode prema cinku moguće je unaprijediti uzgoj te osigurati veću mineralnu, nutritivnu i zdravstvenu vrijednost ploda. Potpuno ostvarenje genetskih predispozicija jagode nemoguće je pri uvjetima nedostatka esencijalnih mikroelemenata, pa tako i cinka.

1.1. Cilj rada

Cilj rada je utvrditi utjecaj cinka na tvrdoću, osnovni kemijski sastav i bioaktivne spojeve u plodu jagode. Također, preko ispitivanih svojstava kvalitete ploda, međusobno usporediti učinkovitost dviju korištenih cinkovih soli (ZnO i $ZnSO_4$).

2. Pregled literature

2.1. Botanička pripadnost, morfološke karakteristike i kemijski sastav jagode

Jagoda (*Fragaria ananassa* Duch.) je višegodišnja, zeljasta voćna vrsta iz porodice Rosaceae. Morfološki gledano, organi jagode mogu se podijeliti na vegetativne (korijen, stablo, list) i reproduktivne (cvijet, plod, sjeme). Korijen jagode se sastoji od primarnog, sekundarnog te vlaknastog korijenja s velikim brojem korijenovih dlačica. Uglavnom se pruža do dubine od 20 do 25 cm a njegov razvoj ovisi o sorti te svojstvima zemljišta ili supstrata. Prema građi i funkciji korijen je moguće podijeliti na zonu korijenove kape koja štiti meristem od povreda, zonu rasta korijena, zonu izduživanja i korijenovih dlačica te zonu grananja. Stablo jagode je visine od 4 do 5 cm i račva se u nekoliko bočnih izboja koji u bazi stabla stvaraju tzv. krunu. Krošnju jagode čine dorzoventralni listovi s uglavnom tri, a rjeđe četiri ili pet plojki. Osobine lista jagode (broj plojki, oblik, debljina, nazubljenost, nervatura, broj i raspored stoma) ovise o genetskim karakteristikama sorti. Cvijet većine kultiviranih sorata jagode je potpun (pravi, hermafroditan), sastoji se od zelenih lapova (10 do 15) i bijelih latica (5 do 10) te 20 do 30 prašnika te oko 500 spiralno raspoređenih tučkova u središtu cvijeta. Sorte jagode s potpunim cvjetovima u pravilu su samooplodne što omogućava uzgoj monosortnih nasada. Plod jagode je zbiran i lažan a sastoji se od peteljke, čaške i velikog broja sinkarpnih oraščića (ahena) koji su utisnuti u razraslu, sočnu cvjetnu ložu. Svaka ahena nastaje od dva oplodna listića (karpele) a plod nastaje srastanjem cvjetne lože zbog čega se smatra lažnim (Blagojević, 2012).

Kvaliteta ploda procjenjuje se temeljem relativnih vrijednosti različitih senzoričkih i kemijskih svojstava (Voća i sur. 2008), a ovisi o genetskim predispozicijama sorte i okolišnim uvjetima. Uz minerale i vitamine, jagoda obiluje antioksidativnim komponentama (Voća i sur., 2010), biološki aktivnim spojevima poput antocijana, flavonoida, flavonola i fenolnih kiselina (Šic Žlabur i sur., 2014; Aaby i sur., 2012). Nadalje, relativno visoke koncentracije elagitanina (Clifford i Scalbert, 2000), proantocijanidina (Buendia i sur., 2010), te elaginske kiseline i njenih glikozida (Aaby i sur., 2005) čine jagodu jednom od rijetkih izvora ovih visoko vrijednih spojeva.

2.2. Uloga cinka u biljci

Biljke uglavnom usvajaju cink u obliku dvovalentnog kationa (Zn^{2+}) te cinkovih helata, iznimno, u slučajevima povišene pH vrijednosti, usvaja se i u obliku monovalentnog kationa ($ZnOH^+$) (Marschner, 2012a i c). Usvajanje cinka je aktivan proces pri kojem inhibitorno djeluju ioni magnezija, kalcija i fosfora. Niska temperatura i suvišak fosfora smanjuju stupanj usvajanja cinka. Pristupačnost cinka je veća u kiselim tlima a njegov nedostatak javlja se najčešće na teškim, glinovitim ali i karbonatnim tlima (Vukadinović i Vukadinović, 2011). Ksilemom putuje vezan uz organske kiseline ili kao slobodni dvovalentni kation a kroz floem se transportira vezanjem uz organske otopljene tvari (Kochian, 1991). Metaboličke funkcije cinka bazirane su na njegovoj sklonosti da stvara tetraedarske komplekse s dušičnim, oksidnim te sumpornim ligandima preko kojih sudjeluje u enzimatskim reakcijama (McCall i sur., 2000). Pritom je važno razlikovati strukturu od katalitičke (aktivacijske) uloge cinka u enzimima (Vallee i Falchuk, 1993). U strukturnom smislu, cink je jedini biogeni metal koji je prisutan u svih šest enzimskih skupina, uključujući oksido-reduktaze, transferaze, hidrolaze, liaze, izomeraze i ligaze. Prisutnost cinka u strukturi raznih enzima posljedica je njegove sposobnosti da stvara ligande s raznim aminokiselinama, najviše histidinom i cisteinom a zatim asparagičnom i glutaminskom kiselinom (Auld, 2009). Time osigurava međusobnu povezanost proteina i građevnih podjedinica enzima. Neki od značajnijih enzima za čiji je strukturni integritet odgovoran cink su: alkohol dehidrogenaza, ugljična anhidraza te bakar-cink superoksidna dismutaza.

U anaerobnim uvjetima, primjerice u slučaju zadržavanja vode u rizosferi, stupanj aktivnosti enzima alkohol dehidrogenaze od velike je važnosti. Navedeni enzim katalizira redukciju acetaldehida nastalog pri anaerobnim uvjetima u etanol, čime omogućava njegovo lučenje kroz korijen. Što je koncentracija kisika manja, aktivnost ovog enzima se pojačava, kao i stupanj lučenja etanola (Heldt i Piechulla, 2011a). Međutim, nedostatak cinka rezultira manjom koncentracijom navedenog enzima budući da dva atoma cinka sudjeluju u njegovom formiranju. Navedeno potvrđuju Moore i Patrick (1988) ustanovivši dvostruko manju aktivnost ovog enzima kod biljaka riže nedovoljno ishranjenih cinkom pri anaerobnim uvjetima. Vidljiva je dakle, indirektna uloga cinka u kontekstu povećanja tolerantnosti bilja prema vodnom stresu.

Indirektna uloga cinka očituje se i u procesu fotosinteze preko enzima ugljične anhidraze. Navedeni enzim sudjeluje u fotosintezi, a u svojoj strukturi sadrži šest podjedinica, svaka s po jednim cinkovim atomom (Sandmann and Böger, 1983). Uloga ovog enzima je ubrzati hidrataciju molekula ugljikovog dioksida. Ugljična anhidraza enzim je zaslužan za brzo izjednačavanje koncentracija usvojenih molekula CO_2 iz atmosfere s molekulama HCO_3^- unutar strome kloroplasta. Konstatnim usvajanjem CO_2 i brzom hidratacijom pomoću ovog enzima povećava se koncentracijski gradijent. Navedeno rezultira povećanim difuznim tokom anorganskog ugljika kroz stromu, što rezultira njegovom visokom koncentracijom u blizini RubisCO-a (Heldt i Piechulla, 2011b). Time započinje fiksacija ugljika u organske molekule. Budući da je cink glavni konstitutivni element ovog enzima, očigledna je njegova indirektna važnost za proces fotosinteze. Navedeno potvrđuju Qiao i sur. (2014) folijarnom aplikacijom

cinkovog sulfata ($ZnSO_4$) u koncentraciji od 7 mM čime su povećali aktivnosti enzima ugljične anhidraze u stromi kloroplasta za 14,6 %. Povećanjem aktivnosti ovog enzima, povećala se i koncentracija klorofila II za 19,4 % što je rezultiralo povećanjem fotosintetske aktivnosti. Ipak, veće koncentracije cinka od navedene, ograničavaju provodljivost kroz puči što smanjuje i fotosintetsku aktivnost (Sagardoy i sur., 2010; Qiao i sur., 2014).

Cink pridonosi strukturalnom integritetu važnog antioksidativnog enzima – bakar-cink superoksidnoj dismutazi ($CuZnSOD$). Navedeni enzim zaslužan je za eliminaciju superoksida (O_2^-), agresivnih radikala nastalih tijekom Mehlerove reakcije. Pretpostavlja se da je uloga bakra u sastavu ovog enzima katalitička, a cinka strukturalna, budući da veže dvije molekule histidina i jednu aspartata čime osigurava stabilnost enzima (Abreu i Cabelli, 2010). Cakmak (2000) upućuje na povezanost između razine koncentracije dostupnog cinka i stupnja aktivnosti ovog enzima. Pritom je stupanj aktivnosti enzima manji smanjenjem koncentracije cinka. Navedeno rezultira povećanjem koncentracije superoksidnih radikala (O_2^-) tijekom fotosintetskog elektron transporta što potvrđuje nekoliko istraživanja (Marschner i Cakmak, 1988; Cakmak, 2005). Povećane koncentracije radikala uzrokuju peroksidaciju membranskih lipida a posljedično i povećanje njene propusnosti (Marschner, 2012b). Očita je dakle, međupovezanost cinka u strukturi enzima i njegove uloge u metabolizmu staničnih organela. Preostaje spomenuti još nekoliko važnih enzima u čijoj strukturi sudjeluje cink poput fosfolipaze, karboksipeptidaze, te vjerojatno najvažnijeg od njih, RNA polimeraze. Uloga cinka u radu RNA polimeraze nije isključivo strukturalna, već je i aktivacijska. Nadalje, važno je spomenuti da aktivnost brojnih enzima (dehidrogenaze, aldolaze, izomeraze, transfosforilaze, RNA i DNA polimeraze) ovisi upravo o prisutnosti cinka. Odnos koncentracije cinka i stupnja aktivnosti enzima ukratko je prikazan u tablici 1.

Pritom je vidljivo relativno brzo smanjenje aktivnosti enzima prouzrokovano duljim izlaganjem biljaka nedostatku cinka. Navedeno potvrđuje aktivacijsku i strukturalnu ulogu kao i općenitu važnost cinka za pravilno odvijanje enzimatskih procesa.

Tablica 1. Promjene u aktivnosti različitih enzima u listovima kukuruza, uzrokovane nedostatkom cinka u trajanju od 5, 10 i 15 dana (Shrotri i sur., 1983).

Enzim	Smanjenje aktivnosti enzima (%)		
	5 dana	10 dana	15 dana
Fruktoza-1,6- bifosfataza	36	50	65
Karbonatna anhidraza	84	76	84
PEP karboksilaza	<1	5	34
RuBP karboksilaza	9	41	38
Malat dehidrogenaza	<1	22	37

Slično enzimima, stabilnost brojnih proteina ovisi o dostupnosti cinka i njegovom vezanju na njihovu molekularnu strukturu. Biljke uzgajane uz nedostatak cinka bilježe smanjenu stopu sinteze i ukupne koncentracije proteina, dok se istovremeno slobodne aminokiseline, čija je

temeljna uloga upravo izgradnja bjelančevina, akumuliraju (Cakmak i Marschner, 1989). Introdokcijom cinka, sinteza proteina se nastavlja a koncentracija slobodnih aminokiselina opada. Razlog tome jest činjenica da je cink esencijalan za strukturalni integritet ribosoma, staničnih organela na kojima se odvija sinteza proteina. Pri nedostatku cinka (koncentracija manja od 100 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari) ribosomi se raspadaju, što rezultira smanjenjem potencijala za sintezu proteina, no proces je reverzibilan njegovim dodatkom u citoplazmu (Prask i Plocke, 1971). Uz navedeno, nedostatak cinka omogućava povećanu aktivnost ribonukleaze, enzima zaslužnog za razgradnju proteina. Odnosno, vidljiva je negativna korelacija između opskrbe cinkom i stupnja aktivnosti ribonukleaze, a posljedično i između aktivnosti ribonukleaze i koncentracije proteina (Marschner, 2012c). Iz svega navedenog, vidljiv je indirektan utjecaj cinka na izgradnju proteina kao i stabilnost njihovih veza a time i na rast bilja općenito. U prilog tome svjedoče i podaci istraživanja o mjestima akumulacije cinka unutar biljnih tkiva. Naime, najveće koncentracije cinka zabilježene su upravo u stanicama apikalnih meristema (točkama rasta) kao i u vršnom staničju korijena pšenice gdje su se koncentracije cinka kretale oko 220 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari (Ozturk, 2006). Isti autor navodi kako se u uvjetima nedostatka cinka, gotovo 40 % folijarno usvojenog cinka iz lišća translocira upravo na prethodno spomenuta mjesta. U apikalnim meristemima potrebna je minimalna koncentracija cinka od 100 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari kako bi se neometano odvijala sinteza proteina što je 5 do 10 puta veća koncentracija od one u starim listovima (Marschner, 2012c). Visoke koncentracije cinka (150 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari) zabilježene su i u strukturi polenovih cjevčica kod angiosperma, sugerirajući na važnost cinka u reproduktivnom smislu (Ender i sur., 1983). Navedeno se posebno odnosi na količinu cinka u sjemenu, vezanom u takozvane globoidne kristale. Mazzolini i suradnici (1985) svjedoče o visokoj razini cinka (600 $\mu\text{g/g}$ suhe tvari) u sjemenu pšenice a slično navode i Cakmak i suradnici (2010), potvrđujući ulogu cinka u reproduktivnom ciklusu biljaka. Osim već spomenutih funkcija u metabolizmu enzima i proteina, cink indirektno utječe i na metabolizam fitohormona, točnije, indol-3-octene kiseline. Indolactona kiselina značajan je fitohormon iz skupine auksina, odgovoran za regulaciju rasta biljke. U sintezi indolactone kiseline sudjeluje triptofan, aminokiselina čija samostalna koncentracija u nevezanom obliku raste pri deficitu cinka (Domingo i sur., 1992). Prethodno je spomenuto povećanje koncentracije određenih slobodnih aminokiselina gdje je nedostatak cinka rezultirao nemogućnošću sparivanja istih u proteine. Slično je zabilježeno i u slučaju triptofana, pri čemu se pretpostavlja da nedostatak cinka inhibira vezanje akumuliranog slobodnog triptofana u metabolički aktivnije molekule, primjerice indol-3-octenu kiselinu (Sekimoto i sur., 1997). Ipak, vjerojatnije je da na nisku razinu indolactone kiseline utječe pojačana oksidacijska degradacija koju regulira već spomenuti enzim CuZn superoksidaza dismutaza. Kako je već rečeno, manjak cinka smanjuje koncentraciju navedenog enzima, a time i antioksidacijski potencijal citoplazme. Navedeno rezultira većom oksidativnom razgradnjom indolactone kiseline čime se inhibira ekspresija ovog fitohormona (Cakmak i Marschner, 1988). Spomenuto se očituje skraćenim rastom biljke te patuljastim listovima što je prepoznatljiv primjer nedostatka cinka. Iz prikazanog, očita je široka involviranost cinka u fiziološke i metaboličke procese a time i njegova važnost za biljku općenito.

3. Materijali i metode

3.1. Opis biljnog materijala

Istraživanje je provedeno u negrijanom, proizvodnom plasteniku tvrtke „Jagodar-HB d.o.o.“ površine 6000 m² smještenom u Petrovini Turopoljskoj (45° 68' 73.03" s.g.š. i 16° 01' 84.9" i.g.d.) u trajanju od 95 dana (od 28. veljače do 3. lipnja, 2017. godine). Zbog bržeg sukcesivnog uroda te relativno jednostavnijeg hidroponskog uzgoja od ostalih vrsta jagodastog voća, za potrebe ovog istraživanja odabrana je stalnorađajuća sorta jagode (*Fragaria x ananassa*, var. Albion). Za potrebe istraživanja korištene su kontejnerske sadnice, a biljke su uzgajane u hidroponskom sustavu uzgoja korištenjem „drip irrigation“ tehnike te su bile podvrgnute istraživanju u trajanju od tri mjeseca. Sorta 'Albion' hibrid je sorata 'Cal 94.16-1' i 'Diamante' te je introducirana na tržište početkom 2006. godine zaslugama Wolfskill Experimental odsjeka sveučilišta u Kaliforniji. Odlikuje se većim, koničnim plodovima izvrsne kvalitete a otporna je na uvenuće izdanaka uzrokovano patogenom *Verticilium dahliae*, crvenu trulež korijena (*Phytophthora cactorum*) te je relativno otporna na antraknozu korijenovog vrata (*Colletotrichum gloeosporoide et acutatum*). Također, blago je tolerantna prema štetnicima poput koprivine grinje (*Tetranychus urticae*). Sorta 'Albion' stvara bujnu lisnu površinu te proizvodi velik broj vriježa koje se moraju skidati kako bi se osigurala visoka produktivnost. Za prekid dormantnosti potrebno ju je izložiti temperaturama nižim od 7 °C (optimum oko 3 °C) u trajanju od 400 sati (Lantz i sur., 2012). Sorta 'Albion' zaštićena je patentom pod brojem: U.S. Plant Pat. No. 10,435.

3.2. Opis istraživanja

Ukupno 320 biljaka posađeno je u polietilenske vreće dimenzija 100 x 28 cm, volumena 29,8 L napunjenih tresetnim supstratom. U predviđene otvore promjera 7 cm sađeno je 10 biljaka po vreći, u trokut na razmak od 20 cm. Korištene su ukupno 32 vreće. Kemijski sastav tresetnog supstrata garantira proizvođač „Legro potgrond“ (Nizozemska), a vrijednosti su navedene prema ambalaži u tablici 2.

Pokus je postavljen po principu slučajnog bloknog rasporeda u četiri ponavljanja na viseće grede, pričvršćene preko armature zaštićenog prostora. Svako biljci pridružena je po jedna kapaljka povezana s lateralnim polipropilenskim cijevima vezanim za spremnike s hranivom otopinom. Za miješanje i distribuciju hranive otopine korišten je „Priva Nutri-fit“ dozator (Priva North America Inc., Kanada). Otopina je distribuirana sukladno stadiju i razvoju biljaka. Tijekom formiranja lisne mase hraniva otopina je distribuirana 3 do 4 puta dnevno u trajanju od 6 minuta. Kasnije, početkom cvatnje, formiranjem plodova i povećanjem temperatura, otopina se primjenjivala više od 5 puta dnevno u trajanju od 4 minute.

Tablica 2. Kemijski sastav tresetnog supstrata, proizvođač „Legro potgrond“ (Nizozemska)

Svojstvo	Vrijednost
pH	5,7-6,1
EC (dS m ⁻¹)	0,28
Organska tvar (%)	66,4
Organski ugljik (%)	38,51
Ukupni dušik (%)	0,68
Ukupni fosfor (%)	1,1
Ukupni kalij (%)	2,4
C/N omjer	56,63

Sastav hranive otopine prikazan je u tablici 3. Tijekom uzgojnog razdoblja održavana je pH vrijednost otopine u rasponu od 5,74 do 6,14. pH otopine korigiran je po potrebi s 56 % dušičnom kiselinom (HNO₃). EC vrijednost otopine kretala se između 1,18 i 1,82 dS/m. Budući da je cilj ovog istraživanja bio istražiti utjecaj različitih koncentracija i oblika cinkovih soli na kvalitetu ploda jagode, potrebno je naglasiti da kontrolna skupina biljaka nije bila osiromašena cinkom. Biljke kontrolne skupine navodnjavane su hranivom otopinom s koncentracijom cinkova sulfata od 5,5 μmol/L. Time je bilo moguće istražiti djeluju li veće koncentracije cinka stimulatивно ili inhibitorно na određena svojstva, u odnosu na biljke kontrolne skupine.

Tablica 3. Sastav hranive otopine

Makrohraniva	Molarna koncentracija (mmol/L)	Mikrohraniva	Molarna koncentracija (μmol/L)
Ca(NO ₃) ₂	5,73	Fe-EDDHA	20
KNO ₃	1,51	H ₃ BO ₄	18
KH ₂ PO ₄	2	ZnSO ₄	5,5
NH ₄ NO ₃	3,55	MnSO ₄	0,8
K ₂ SO ₄	0,84	CuSO ₄	0,5
MgSO ₄	1,2	Na ₂ MoO ₄	0,4
HNO ₃ (56 %)	0,022		

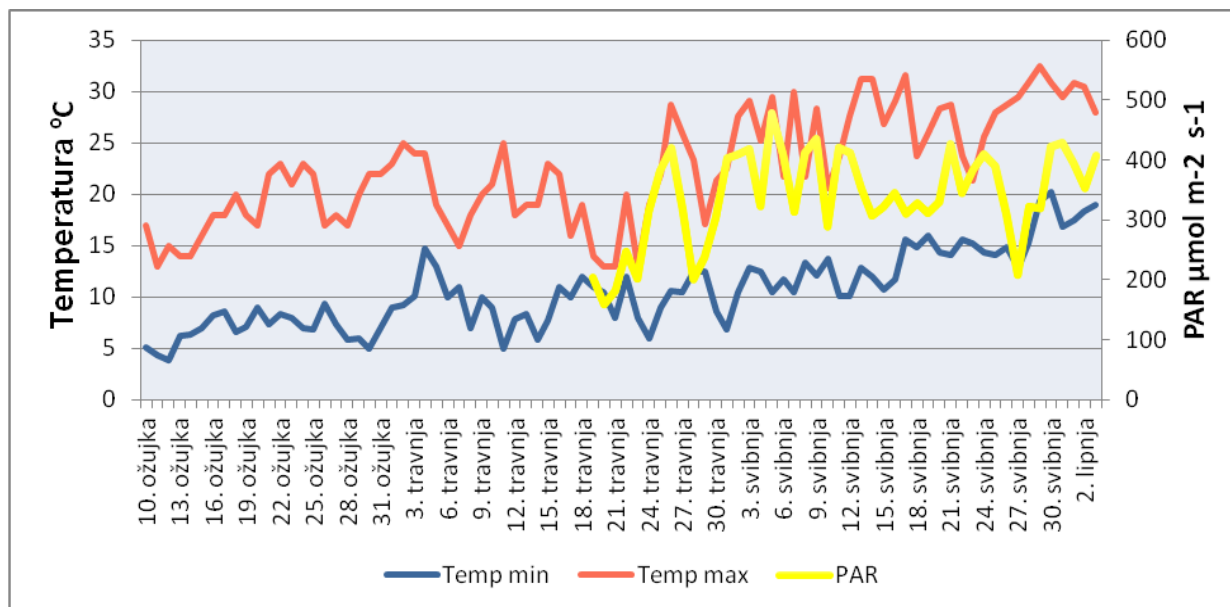
Za potrebe ovog istraživanja korištena su dva različita oblika cinkovih soli: cinkov oksid (ZnO) (GHC Chemicals Lt., Kanada) i cinkov sulfat (ZnSO₄) (Sigma-Aldrich Co, SAD). Korištena sol cinkova oksida dobivena je LeClaire-ovim postupkom, odnosno oksidacijom cinkovih para, a veličina čestica iznosila je 45 μm. Soli cinkova sulfata dobivene su reakcijom cinkova karbonata

sa sumpornom kiselinom te su značajno lakše topljive u vodi. Obje soli korištene su u koncentracijama koje, s obzirom na maseni udio cinka u njima, zadovoljavaju koncentracije slobodnog cinka od 20, 60 i 120 mg/L. Tako je primjerice maseni udio cinka u soli cinkova oksida 80 %, a u soli cinkova sulfata 40,5 %. Na temelju masenih udjela cinka određene su potrebne koncentracije obje soli (jednadžba 1) kako bi se zadovoljile prethodno spomenute koncentracije slobodnog cinka (20, 60 i 120 mg/L). Shodno tome, određene su koncentracije cinkova oksida (ZnO) od 25, 75 i 150 mg/L i cinkova sulfata (ZnSO₄) od 50, 150 i 300 mg/L. Važno je naglasiti da su ove koncentracije međusobni ekvivalenti po količini slobodnog cinka, odnosno koncentracija od 25 mg/L ZnO unosi jednaku količinu cinka u otopinu kao i koncentracija od 50 mg/L ZnSO₄. Isto vrijedi i za ostale koncentracije. Navedeno je od posebne važnosti budući da se tijekom ovog istraživanja nisu uspoređivale samo različite koncentracije cinka već i učinak obje korištene cinkove soli. Istovremeno koristeći soli cinkova oksida (ZnO) i sulfata (ZnSO₄) kao dva različita izvora cinka, moguće je usporediti njihovo djelovanje na brojne karakteristike kvalitete ploda. Shodno navedenom, tijekom ovog istraživanja praćen je utjecaj cinka na tvrdoću ploda, količinu suhe i topljive tvari, količinu ukupnih kiselina, vitamina C, ukupnih fenola, flavonoida, neflavonoida i antocijana te antioksidacijski kapacitet.

(1)

$$x \text{ soli (mg)} = \frac{M(\text{soli}) \times \text{potrebna koncentracija cinka (mg/L)}}{M(\text{Zn})}$$

Prije početka tretiranja, odvojeni su redovi biljaka tretiranih cinkovim oksidom od onih tretiranih cinkovim sulfatom te su tretmani različitim koncentracijama pravilno označeni. Biljke su tretirane pojedinačno, ubrizgavanjem 50 mL otopine direktno u supstrat neposredno uz svaku biljku. Istovremeno, biljke kontrolne skupine tretirane su s 50 mL destilirane vode. Prva primjena cinkova sulfata i cinkova oksida obavljena je 28. veljače, a svaka sljedeća tjedan dana kasnije od prethodne, odnosno 7., 14., 21. i 28. ožujka te 4., 11., 18. i 25. travnja. Nakon 25. travnja obustavljena je primjena cinkovih soli. Korištenjem senzora (Spectrum Technologies, SAD), tijekom čitavog uzgojnog razdoblja periodično je praćena minimalna i maksimalna temperatura (°C), a početkom formiranja plodova i fotosintetski aktivna radijacija (PAR) izražena u jedinicama $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Grafikon 1). Senzori za praćenje temperature postavljeni su u razini lisne rozete, a senzori za mjerenje fotosintetski aktivne radijacije neposredno iznad, u središtu pokušališta. Tijekom istraživanja praćen je utjecaj različitih koncentracija cinka na kvalitetu ploda jagode kroz tri uzastopne berbe. Prva berba obavljena je 3. svibnja, druga 15. svibnja a treća 31. svibnja. Plodovi su brani u rano jutro navedenih dana te dopremani do Laboratorija Zavoda za voćarstvo gdje su istoga dana rađene analize. Prilikom branja, plodovi kontrolne skupine biljaka te biljaka tretiranih cinkovim oksidom i cinkovim sulfatom međusobno su odvajani. Nadalje, plodovi biljaka tretiranih cinkovim oksidom i cinkovim sulfatom razvrstavani su ovisno o pripadajućem tretmanu i koncentraciji. Plodovi su dopremani u letvaricama, zaštićeni od direktnog sunčevog svjetla te podvrgnuti analizama 40 minuta do sat vremena nakon berbe.



Grafikon 1. Prikaz kretanja vrijednosti minimalne i maksimalne temperature zraka (°C) te fotosintetski aktivne radijacije (PAR)

3.3. Metode

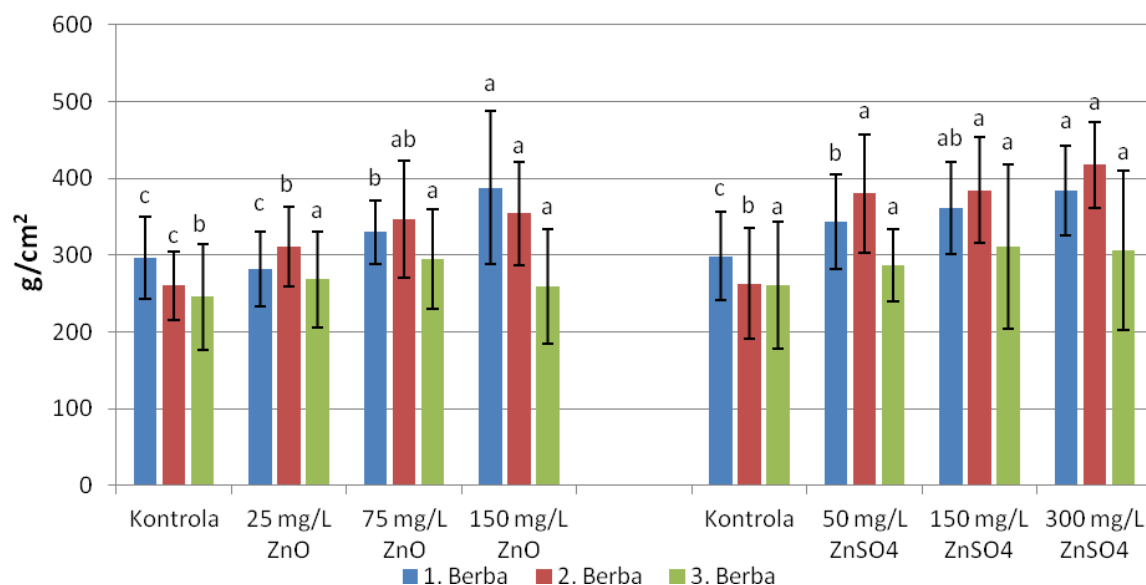
Ispitivana su sljedeća svojstva plodova jagoda: tvrdoća, ukupna suha tvar, sadržaj ukupnih kiselina, sadržaj topljive suhe tvari, sadržaj vitamina C, sadržaj ukupnih fenola (flavonoida, neflavonoida) i antocijana te antioksidacijski kapacitet. Tvrdoća ploda (g/cm²) određena je digitalnim penetrometrom „Force gauge PCE-PTR“ (PCE Instruments, Njemačka) preko nastavka promjera 6 mm, a rađena su ukupno dva mjerenja po svakom plodu. Od parametara osnovnog kemijskog sastava, a prema standardnim metodama (AOAC, 1995) određena je: količina ukupne suhe tvari (%) sušenjem na 105 °C do konstantne mase, količina ukupnih kiselina (%) potencimetrijskom titracijom s otopinom natrijeva hidroksida (AOAC, 1995), količina topljive suhe tvari (%) digitalnim refraktometrom „Refracto 30 PX“ (Mettler-Toledo, Švicarska). Od istraživanih bioaktivnih spojeva, količina vitamina C (mg/100 g svježe tvari) određena je titrimetrijskom metodom s 2,6-p-diklorindofenolom (AOAC, 2002) koja se temelji na oksidaciji L-askorbinske kiseline u dehidroaskorbinsku kiselinu pomoću 2,6-p-diklorindofenola; količina ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida (mg GAE/100 g svježe tvari) određen je spektrofotometrijski (Shimadzu, UV 1650 PC, Njemačka) korištenjem Folin-Ciocalteu kolorimetrijske metode koja se temelji na obojenoj reakciji koju fenoli razvijaju s Folin-Ciocalteovim reagensom (Ough i Amerine, 1988), količina ukupnih antocijana određena je spektrofotometrijski (Shimadzu UV 1650 PC, Njemačka) metodom izbjeljivanja disulfitom (Ough i Amerine, 1988). Antioksidacijski kapacitet određen je spektrofotometrijskom metodom uz upotrebu ABTS radikala kationa (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina)).

Sve laboratorijske analize kemijskih parametara provedene su u tri ponavljanja. Rezultati istraživanja statistički su obrađeni u programskom paketu SAS, verzija 9.3 (SAS, 2010). Rezultati su podvrgnuti jednosmjernoj analizi varijance (ANOVA). Srednje vrijednosti uspoređene su t-testom (LSD), a smatraju se značajno različitima kod $p \leq 0,0001$. Uz rezultate u grafikonima nalaze se i eksponenti različitih slova koji označavaju značajne statističke razlike između variranih tretmana kod $p \leq 0,0001$. Prosječno odstupanje rezultata od srednje vrijednosti za svaki istraživani kemijski parametar prikazano je vrijednostima standardne devijacije.

4. Rezultati i rasprava

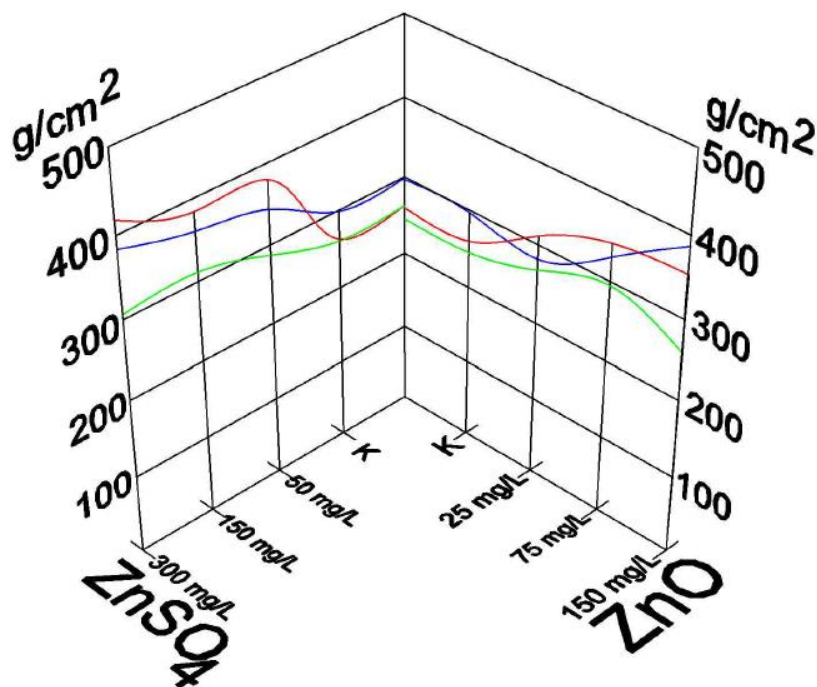
4.1. Tvrdoća ploda

Tijekom prve berbe, kod obje korištene soli, zabilježen je linearan porast vrijednosti tvrdoće ploda povećanjem koncentracije cinka (Grafikon 2). Pritom su najveće vrijednosti zabilježene pri najvećim koncentracijama te su iznosile 387,5 g/cm² (ZnO) i 383,75 g/cm² (ZnSO₄). Sličan trend zabilježen je i tijekom drugog roka berbe uz najveće vrijednosti tvrdoće ploda od 354,25 g/cm² (ZnO) i 417,72 g/cm² (ZnSO₄). Iz priloženog grafikona (Grafikon 2) vidljivo je da se tvrdoća ploda smanjila tijekom treće berbe neovisno o korištenoj soli ili koncentraciji cinka. Ipak, tretmani s cinkovim sulfatom rezultirali su tvrdim plodovima od plodova s biljaka tretiranih cinkovim oksidom tijekom treće berbe (Slika 1). Istovremeno nisu zabilježene značajne razlike u tvrdoći ploda između biljaka tretiranih različitim koncentracijama cinkovog sulfata. Značajne razlike između korištenih soli zabilježene su tijekom prve i druge berbe (Slika 1). Pritom su tretmani s cinkovim sulfatom (50 i 300 mg/L) rezultirali značajno većom ($p=0,0019$ i $p=0,0096$) tvrdoćom ploda u odnosu na njima jednake tretmane cinkovim oksidom (25 i 150 mg/L).



Napomena: Prikazane su prosječne vrijednosti \pm SD (standardna devijacija). Različita slova označavaju signifikantne razlike pri $p \leq 0,0001$, promatranih između različitih koncentracija za pojedinačan oblik soli. Utvrđene razlike između korištenih soli uvrštene su zajedno s vrijednostima signifikantnosti (p) u tekstu.

Grafikon 2. Tvrdoća ploda jagode, sorta 'Albion'



Napomena: Plava linija opisuje vrijednosti tijekom prve, crvena tijekom druge, a zelena tijekom treće berbe.

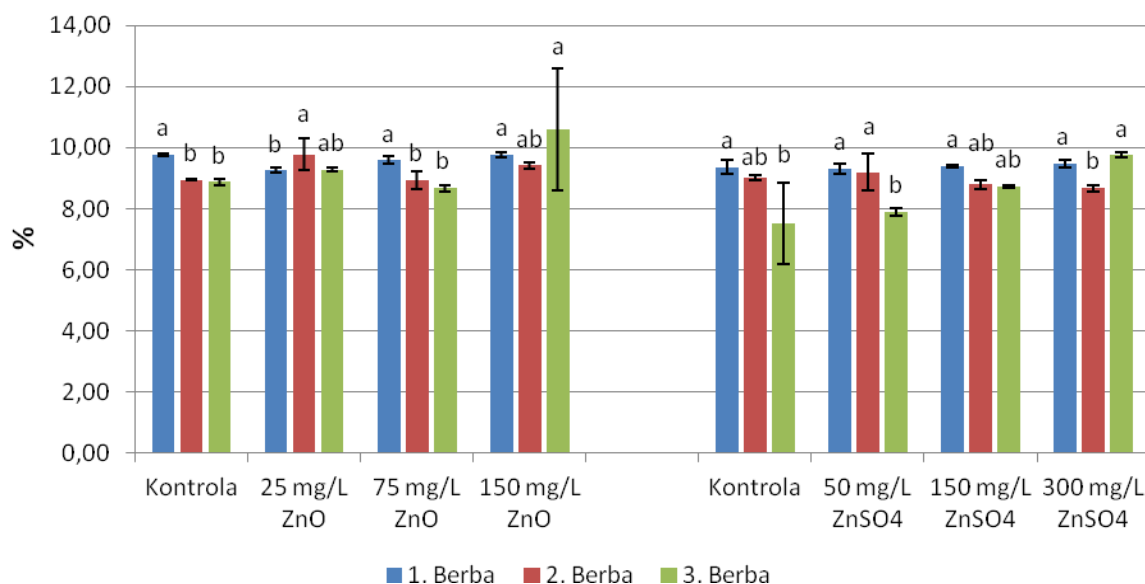
Slika 1. Usporedba utjecaja korištenih soli na tvrdoću ploda jagode, sorte 'Albion'

Općenito, tvrdoća ploda uvelike ovisi o unutarnjem tlaku stanice, strukturalnim karakteristikama stanične membrane, te o međusobnoj adheziji susjednih stanica (Harker i Sutherland, 1993). Poznata je uloga pektina čije slobodne karboksilne grupe vežu kalcijeve i magnezijeve ione stvarajući svojevrsni gel koji povezuje susjedne stanice ploda. Međutim, starenjem ploda, pektin je podložan razgradnji pod utjecajem poligalakturonaze i pektat lijaze (Paniagua i sur., 2017). Razgradnjom pektina nestaje ujedno i svojevrsni zaštitni sloj nakon čega su membrane površinskih stanica u većoj mjeri izložene oksidativnoj degradaciji. Uloga cinka u očuvanju integriteta staničnih membrana je da se veže za membranski fosfolipid ili da stvori tetraedarske komplekse (veze) s molekulama cisteina od polipeptidnih lanaca (Marschner, 2012d). Time cink štiti membranske lipide i proteine od utjecaja štetnih slobodnih radikala. Uz navedeno, primjerena opskrbljenost cinkom rezultira i boljom regulacijom membranske propusnosti zbog njegove interferencije u aktivnost rada NADPH (Welch i sur., 1982; Cakmak i Marschner, 1988 a i b). Isti autori zabilježili su i ubrzano stvaranje slobodnih radikala u odsustvu cinka što je pogodovalo bržoj peroksidaciji staničnih membrana. Nadalje, MacDonald (2000) navodi pozitivan utjecaj cinka na rad RNA polimeraze čime se potiče transkripcija i dioba stanica. Shodno tome, za pretpostaviti je da bi utjecaj većih koncentracija cinka mogao rezultirati i većim brojem stanica po jedinici površine, čime bi međustanični prostori bili manji, staničje gušće a plod čvršći. Ipak, nedostaju istraživanja koja bi potvrdila ovakvu pretpostavku stoga preostaje pripisati veću čvrstoću ploda pozitivnoj ulozi cinka u regulaciji slobodnih radikala i očuvanju staničnih membrana. Premda mehanizam utjecaja cinka na tvrdoću ploda nije u potpunosti jasan, njegovu ulogu na spomenuto svojstvo potvrđuju Zhang i sur. (2013) u

istraživanju utjecaja cinkova sulfata na kvalitetu ploda jabuke. Navode kako je neovisno o koncentraciji cinka, tvrdoća ploda tretiranih biljaka nadmašila vrijednosti tvrdoće ploda kod biljaka kontrolne skupine. Nadalje, budući da se povećanjem čvrstoće ploda smanjuje osjetljivost od oštećenja prilikom transporta (Esmel i sur., 2008), prema rezultatima ovog istraživanja, primjena cinkova sulfata osigurala bi proizvodnju s manjim gubicima primarnog proizvoda. Također, Chaturvedi i sur. (2005) bilježe značajno duže vrijeme skladištenja (2,95 dana) jagoda pri sobnoj temperaturi pod utjecajem većih koncentracija cinka. Moguće je pretpostaviti da je navedeno rezultat povećane tvrdoće ploda.

4.2. Količina ukupne suhe tvari ploda

Rezultati ukupne suhe tvari ploda jagode sorte 'Albion' prikazani su u Grafikonu 3.



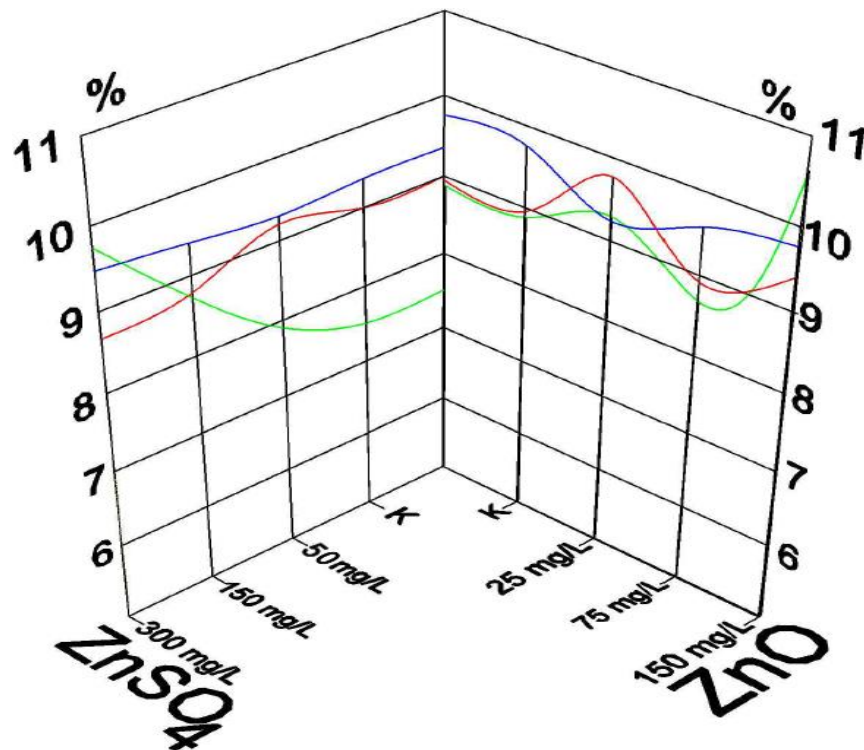
Napomena: Prikazane su prosječne vrijednosti \pm SD (standardna devijacija). Različita slova označavaju signifikantne razlike pri $p \leq 0,0001$, promatranih između različitih koncentracija za pojedinačan oblik soli. Utvrđene razlike između korištenih soli uvrštene su zajedno s vrijednostima signifikantnosti (p) u tekstu.

Grafikon 3. Količina suhe tvari ploda jagode, sorta 'Albion'

Tijekom prve berbe, količina suhe tvari se nije značajnije razlikovala osim pri koncentraciji od 25 mg/L ZnO, kod koje je zabilježena najmanja vrijednost (9,24 %). Vrijednosti količine suhe tvari značajno su se razlikovale tijekom drugog roka berbe kod obje korištene soli. Najmanje vrijednosti zabilježene su kod netretiranih biljaka (Grafikon 3, kontrolna skupina), dok su najveće vrijednosti od 9,77 % (25 mg/L ZnO) i 9,2 % (50 mg/L ZnSO₄), ostvarene kod biljaka tretiranih s najmanjim koncentracijama cinka. Tijekom treće berbe, najveće vrijednosti ostvarene

su pri tretmanima s najvećom koncentracijom cinka kod obje soli, 10,61 % (150 mg/L ZnO) te 9,75 % (300 mg/L ZnSO₄). Brojna istraživanja svjedoče o utjecaju cinka na količinu suhe tvari. Primjerice, Malik i sur. (2011) navode da povećanjem koncentracije cinkovog sulfata (ZnSO₄) do 300 ppm raste količina suhe tvari u zrnu riže. Istovremeno kod žitarica poput amaranta granica povećanja količine suhe tvari dosegnuta je korištenjem 200 ppm ZnSO₄. Slično se očitivalo i kod zlatnog graha pri čemu su biljke tretirane manjim koncentracijama (50 i 100 mg ZnSO₄/kg tla) ostvarile veće vrijednosti suhe tvari od kontrolne skupine. Međutim, veće koncentracije cinkovog sulfata (150 i 250 mg/kg tla) značajno su smanjile spomenute vrijednosti (Manivasagaperumal i sur., 2012). Suprotno tome, iz prikazanih rezultata (Grafikon 3), vidljivo je da su veće koncentracije cinka (150 mg/L ZnO i 300 mg/L ZnSO₄) ostvarile najveće vrijednosti suhe tvari tijekom prve i treće berbe. Uzrok tome je vjerojatno dulji vremenski interval između dvije primjene cinka u odnosu na prikazana istraživanja. Naime, biljke su u spomenutim istraživanjima svakodnevno podvrgnute visokim koncentracijama cinka, dok su biljke jagode tretirane jednom tjedno u razdoblju od 9 tjedana. Za razliku od ostalih istraživanja, navedeno nije rezultiralo smanjenjem količine suhe tvari pod utjecajem većih koncentracija cinka. Premda brojna istraživanja potvrđuju utjecaj cinka na količinu suhe tvari, propuštaju adekvatno opisati metaboličke puteve u kojima cink sudjeluje te pojasniti njihovu ulogu u akumulaciji iste. Budući da taj proces podrazumijeva međuovisnost brojnih molekula, enzima i raznih metaboličkih puteva, nemoguće je govoriti o isključivom utjecaju cinka na spomenuto. Ipak, na temelju dosadašnjih saznanja o funkciji cinka u biljci moguće je objasniti dobivene rezultate kako iz ovog, tako i iz prethodno spomenutih istraživanja. Budući da razina suhe tvari raste povećanjem opskrbljenosti biljke cinkom do određenog stupnja, a pada ukoliko se isti prekorači (Malik i sur., 2011), povezanost ovih čimbenika za većinu biljnih vrsta je neupitna. Nakupljanje suhe tvari u osnovi je uvjetovano sposobnošću biljke da usvoji anorganski ugljik iz atmosfere te ga metaboličkom aktivnošću veže u organske spojeve. Otvaranjem puči započinje usvajanje ugljika a kasnije i njegova fiksacija pomoću enzima RubisCO. Uloga cinka, iako indirektna, elementarna je za pravilno odvijanje spomenutih procesa. Naime, nakon što biljka usvoji CO₂, potrebno ga je usmjeriti na aktivno mjesto RubisCO-a što se odvija kroz stromu kloroplasta. Kako bi se olakšao i ubrzao transport CO₂, stroma kloroplasta sadrži visoke koncentracije enzima ugljične anhidraze čiji je glavni konstitutivni element upravo cink. Quiao i suradnici (2014) upućuju na korelaciju između opskrbe cinkom i koncentracije ugljične anhidraze, pri čemu se koncentracija enzima smanjila smanjenjem razine opskrbljenosti cinkom. Kako je spomenuto u drugom poglavlju, uloga ovog enzima je ubrzati hidrataciju molekula ugljikovog dioksida i povećati njihov difuzni priljev prema RubisCO enzimu (Riazunnisa i sur., 2006). O aktivnosti ugljične anhidraze indirektno ovisi i brzina fiksiranja anorganskog ugljika u organski oblik preko RubisCO enzima što potvrđuju Siedlecka i sur. (1999) te Majeau i Coleman (1994). Time započinje stvaranje asimilata što u konačnici rezultira i akumulacijom suhe tvari. Shodno tome, moguće je da primjerena opskrbljenost cinkom stimulira ovaj proces, budući da se i aktivnost ugljične anhidraze tada pojačava (Sasaki i sur., 1998). Ovisno o biljnoj vrsti, primjenom adekvatnih koncentracija cinka (uglavnom ne većih od 300 mg/L) u primjerenim vremenskim intervalima, ostvaruje se veća razina suhe tvari.

Potrebno je naglasiti kako je sinteza suhe tvari uvjetovana velikim brojem čimbenika, a opskrbljenost biljke cinkom tek je jedan od njih. Nadalje, kako bi se opisala važnost poznavanja stvarnih potreba biljaka za cinkom, na primjeru ovog svojstva kvalitete ploda, moguće je objasniti negativan utjecaj visokih koncentracija cinka. Iako se potrebe biljaka za cinkom razlikuju među različitim vrstama, brojni autori navode kako višak cinka inhibira provodnost puči i fotosintetsku aktivnost klorofila (Ismail i Azoz, 2005; Vaillant i sur., 2005; Kupper i sur., 1998). Preciznije, Sagardroy i sur. (2010) navode da koncentracije cinka veće od 300 μM drastično smanjuju provodljivost puči (70 %) i mezofila (44 %) cikle. Uzrok tome su fizikalne i strukturalne promjene (frekventnost otvaranja te smanjeni prorezi) uočene na pučima biljaka tretiranih visokim koncentracijama cinka. Pritom nisu zabilježene interferencije cinka sa signalnim biokemijskim putevima koji reguliraju otvaranje i zatvaranje puči. Istovremeno su zabilježili smanjeno usvajanje CO_2 te dvostruko veće koncentracije enzima ugljične anhidraze, koja se zbog smanjene aktivnosti akumulirala u stromi kloroplasta. Iz svega navedenog moguće je pretpostaviti da je smanjena aktivnost puči rezultirala smanjenim usvajanjem CO_2 iz atmosfere. Time se smanjila i aktivnost ugljične anhidraze (no koncentracija enzima se udvostručila) budući da se koncentracija supstrata kojeg taj enzim veže (CO_2) reducirala. Posljedično je reducirana i razina CO_2 u okruženju RubisCO enzima te je time smanjen potencijal za fiksaciju ugljika u organske molekule, što je vjerojatno rezultiralo smanjenjem količine suhe tvari. Tijekom ovog istraživanja, primjena najmanjih koncentracija obje soli (25 i 50 mg/L) povećala je količinu suhe tvari u drugoj berbi. Treći rok berbe zabilježio je pad količine suhe tvari kod kontrolne skupine biljaka. Međutim, povećanjem koncentracije cinka vjerojatno je stimulirana aktivnost ugljične anhidraze što je rezultiralo porastom vrijednosti suhe tvari neovisno o korištenoj soli. Moguće je pretpostaviti da bi utjecaj cinka na ovo svojstvo bio izraženiji da su vremenski intervali primjene cinka bili intenzivniji od jedne aplikacije tjedno. Uspoređujući soli, tijekom prve berbe značajno veća vrijednost ($p=0,0205$) suhe tvari ostvarena je korištenjem soli cinkovog oksida pri koncentraciji od 150 mg/L u odnosu na sulfatni oblik (300 mg/L, Slika 2). Značajne razlike utvrđene su između biljaka tretiranih s 25 mg/L ZnO i 50 mg/L ZnSO₄ ($p=0,0346$) te 150 mg/L ZnO i 300 mg/L ZnSO₄ ($p=0,0089$) tijekom druge berbe. Kod oba tretmana zabilježena je veća količina suhe tvari kod biljaka tretiranih cinkovim oksidom. Pritom su, kako je prethodno objašnjeno, obje koncentracije jednake razine vezanog cinka unutar spomenutih soli. Neovisno o obliku korištene soli, cinkovog oksida (ZnO) ili cinkovog sulfata (ZnSO₄), nije zabilježena značajna razlika među tretmanima tijekom trećeg roka berbe.

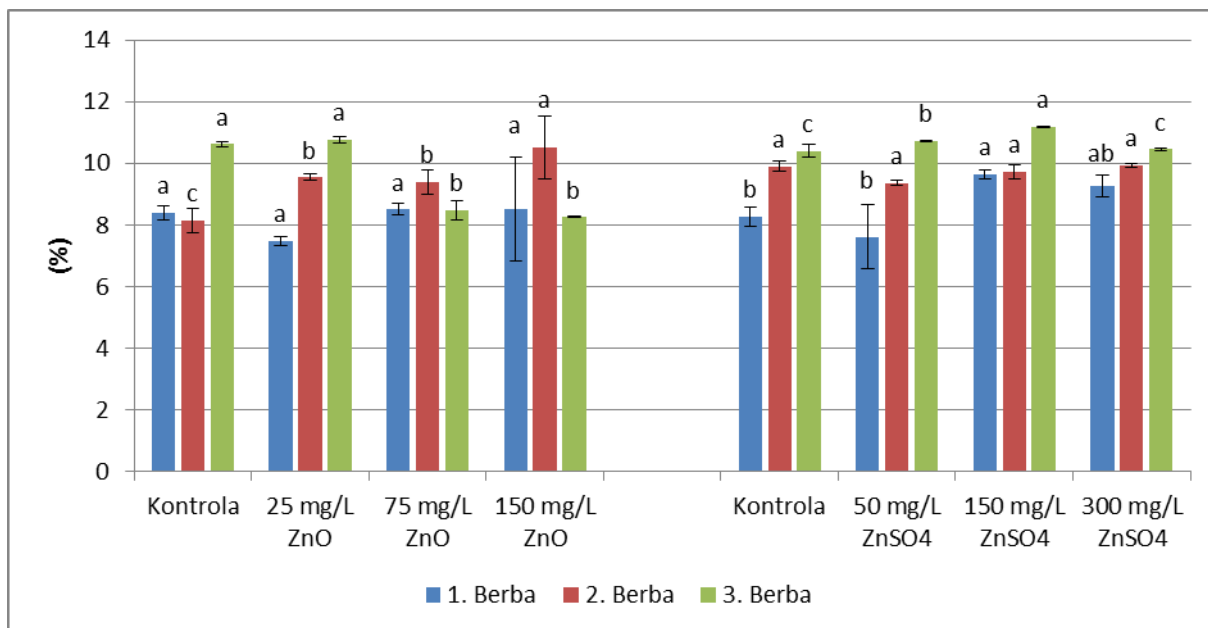


Napomena: Plava linija opisuje vrijednosti tijekom prve, crvena tijekom druge, a zelena tijekom treće berbe.

Slika 2. Usporedba utjecaja korištenih soli na količinu suhe tvari ploda jagode, sorte 'Albion'

4.3. Količina ukupnih kiselina ploda

Biljke tretirane cinkovim oksidom tijekom prve berbe nisu zabilježile značajne razlike u količini ukupnih kiselina. Istovremeno, biljke tretirane cinkovim sulfatom ostvarile su značajno veće vrijednosti ukupnih kiselina pri koncentracijama od 150 i 300 mg/L ZnSO₄ (9,63 % i 9,26 %). Tijekom drugog roka berbe, kod biljaka tretiranih cinkovim oksidom zabilježen je porast količine ukupnih kiselina povećanjem koncentracije cinka (Grafikon 4). Istovremeno nisu zabilježene značajne razlike u količini ukupnih kiselina među različitim koncentracijama cinkovog sulfata.

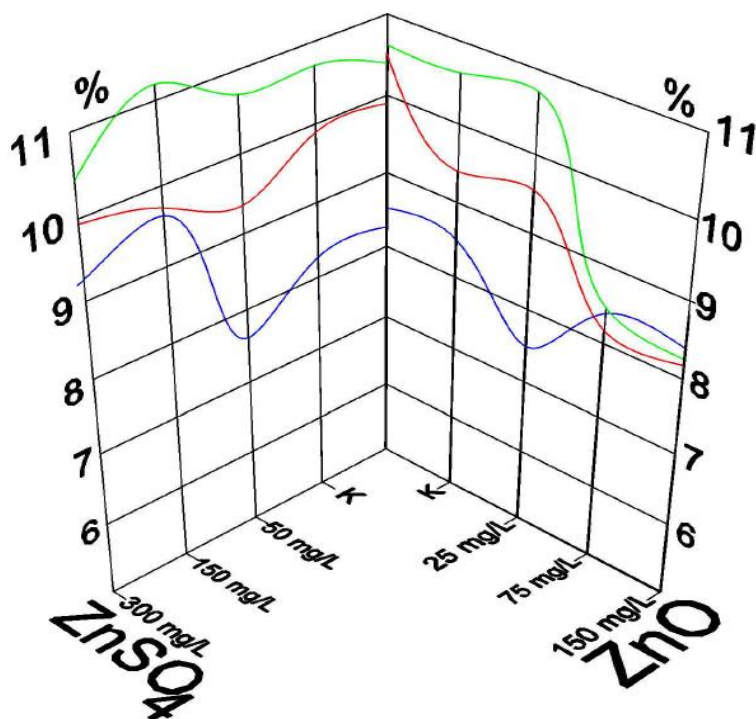


Napomena: Prikazane su prosječne vrijednosti \pm SD (standardna devijacija). Različita slova označavaju signifikantne razlike pri $p \leq 0,0001$, promatranih između različitih koncentracija za pojedinačan oblik soli. Utvrđene razlike između korištenih soli uvrštene su zajedno s vrijednostima signifikantnosti (p) u tekstu.

Grafikon 4. Količina ukupnih kiselina u plodu jagode sorte 'Albion'

Uspoređujući soli, tijekom prve i druge berbe, nisu zabilježene značajne razlike u količini ukupnih kiselina ploda jagode (Slika 3). Tijekom treće berbe, koncentracije od 75 mg/L ZnO (8,46 %) i 150 mg/L ZnSO₄ (11,18 %) značajno su se razlikovale ($p < 0,0001$) u količini ukupnih kiselina. Slično je zabilježeno i pri najvećim koncentracijama od 150 mg/L ZnO (8,25 %) i 300 mg/L ZnSO₄ (10,45 %) uz $p \leq 0,0001$. U oba slučaja, korištenjem soli cinkova sulfata postignute su veće vrijednosti ukupnih kiselina. Kazemi (2015) navodi da je folijarna aplikacija ZnSO₄ u koncentraciji od 150 mg/L rezultirala biljkama s najvećim udjelom ukupnih kiselina u plodu jagode. Slično je zabilježeno i u ovom istraživanju, pri čemu je koncentracija ZnSO₄ od 150 mg/L rezultirala najvećom količinom ukupnih kiselina (11,18 %). Sporija topivost i teže ispiranje oksidnog oblika cinkove soli potencijalni su uzroci smanjenja količine ukupnih kiselina kod biljaka tretiranih većim koncentracijama ZnO (75 i 150 mg/L). Zbog spomenutih karakteristika soli, svakom primjenom cinkovog oksida dolazilo je do sve veće akumulacije soli u uzgojnom supstratu. Tako je tijekom druge berbe dosegnuta optimalna opskrbljenost cinkom, a dodatne aplikacije većih koncentracija ZnO rezultirale su zasićenjem supstrata prilikom treće berbe. Tome svjedoče i vidljivi ostaci soli na supstratu, uočeni prije posljednje primjene cinkovog oksida. O negativnom utjecaju većih koncentracija cinka na količinu ukupnih kiselina svjedoče i Gezgin i Bayrakli (2009). Najveća koncentracija ZnSO₄ od 300 mg/L također je rezultirala smanjenjem količine ukupnih kiselina u posljednjoj berbi, međutim ne u jednakoj mjeri kao i kod biljaka tretiranih najvećom koncentracijom (150 mg/L) ZnO.

Navedeno je vjerojatno rezultat lakše topivosti soli cinkova sulfata, zbog čega se ista nije akumulirala u supstratu i manifestirala u obliku pada količine ukupnih kiselina. Slabija topivost i veća akumulacija cinkova oksida vjerojatno su uzrok slabog utjecaja na količinu ukupnih kiselina.



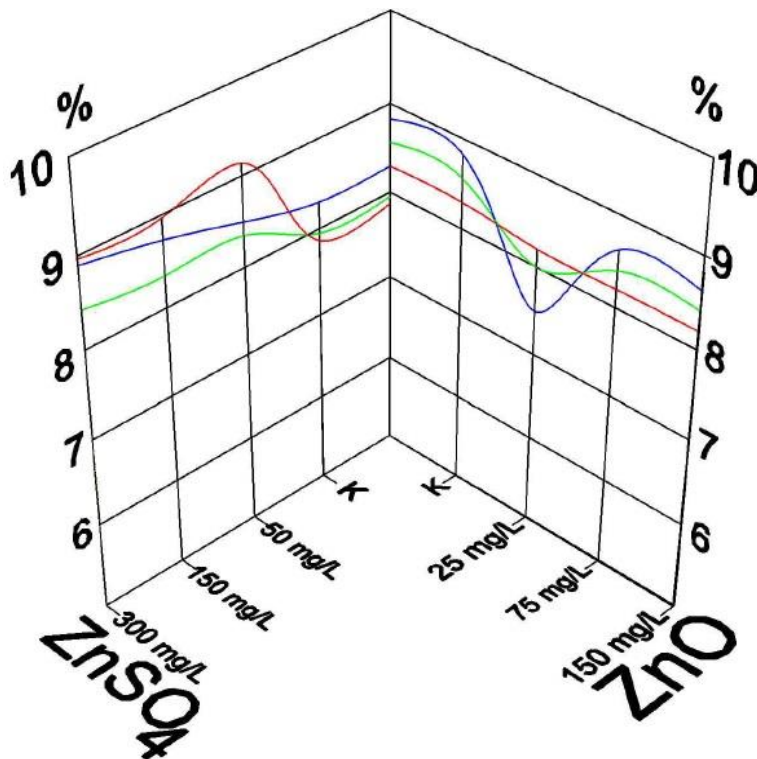
Napomena: Plava linija opisuje vrijednosti tijekom prve, crvena tijekom druge, a zelena tijekom treće berbe.

Slika 3. Usporedba utjecaja korištenih soli na količinu ukupnih kiselina u plodu jagode sorte 'Albion'

4.4. Količina topljive suhe tvari ploda

Brojna istraživanja potvrđuju pozitivan utjecaj cinkova sulfata na količinu topljive suhe tvari raznih kultura (Dixi i Gamdagin, 1978; Abedy, 2001). Slično navedenim istraživanjima, količina topljive suhe tvari u plodu jagode se značajno razlikovala među tretmanima s cinkovim sulfatom. Naime, tijekom prve berbe, biljke tretirane koncentracijom od 300 mg/L $ZnSO_4$ ostvarile su značajno veće vrijednosti topljive suhe tvari (8,9 %). Navedeno se podudara s rezultatima koje navodi Kazemi (2015) u istraživanju utjecaja folijarne aplikacije $ZnSO_4$ na kvalitetu sorte 'Pajaro'. Pritom su biljke tretirane najvećom koncentracijom $ZnSO_4$ (150 mg/L) ostvarile i najveće rezultate (9,87 %). Značajan pad količine topljive suhe tvari zabilježen je drugog roka berbe kod biljaka tretiranih većim koncentracijama $ZnSO_4$ (Grafikon 5). Istovremeno su biljke tretirane s 50 mg/L $ZnSO_4$ ostvarile najveći zabilježeni rezultat (9,13 %).

Analizom plodova iz druge berbe zabilježena je i jedina značajna razlika ($p=0,0321$) među korištenim solima i to u slučaju navedene koncentracije od 50 mg/L $ZnSO_4$ i njoj jednake koncentracije ZnO od 25 mg/L. Pritom su biljke tretirane s $ZnSO_4$ ostvarile veću količinu topljive suhe tvari. U trećoj berbi nisu zabilježene značajne razlike između korištenih soli (Slika 4).

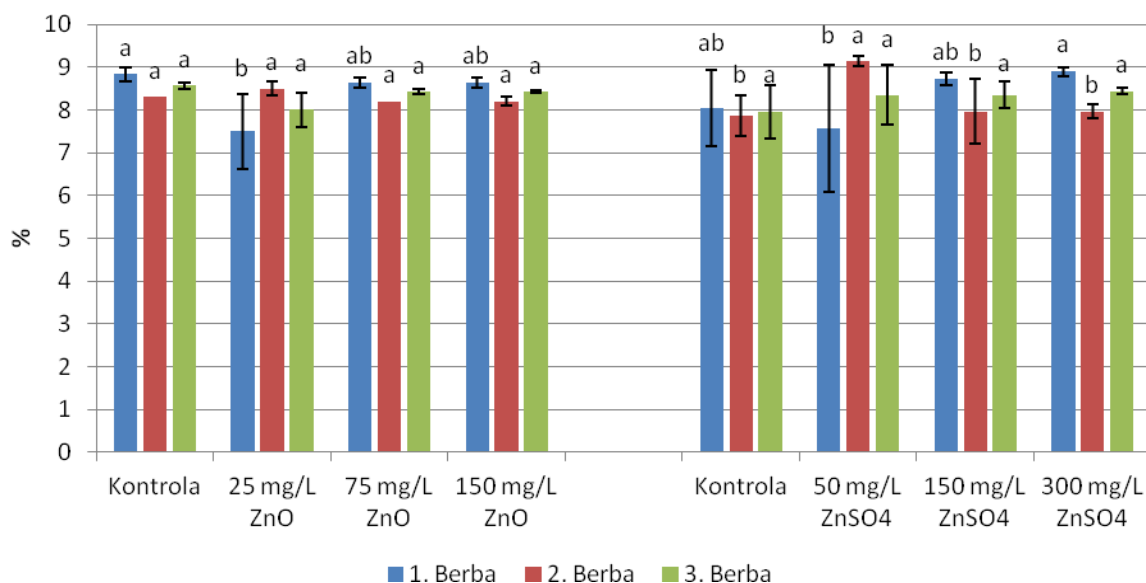


Napomena: Plava linija opisuje vrijednosti tijekom prve, crvena tijekom druge a zelena tijekom treće berbe.

Slika 4. Usporedba utjecaja korištenih soli na količinu topljive suhe tvari ploda jagode sorte 'Albion'

Iz prikazanih rezultata (Grafikon 5) vidljivo je da primjena ZnO tijekom svih prikazanih berbi nije rezultirala povećanjem topljive suhe tvari što je vjerojatno rezultat slabije topljivosti ove soli. Primjena lakše topljivog cinkovog sulfata u većim koncentracijama (150 i 300 mg/L) značajno je povećala količinu topljive suhe tvari tijekom prve berbe. Budući da razina topljive suhe tvari uvelike ovisi o enzimima koji reguliraju metabolizam ugljikohidrata (Ruffner, 1982), navedeno je vjerojatno posljedica povećanja njihove aktivnosti pod pozitivnim utjecajem cinka. Naime, saharoza sintaza i sorbitol dehidrogenaza primjer su takvih enzima, a važan kofaktor u njihovom djelovanju je upravo cink (Park i sur. 2002; Andreini i Bertini, 2012). Utjecaj cinka potvrđuju Zhang i sur. (2016) pri čemu je ustanovljeno da folijarnom aplikacijom cinkova sulfata raste aktivnost spomenutih enzima te se ubrzava razgradnja saharoze na glukozu i fruktozu. Navedeno rezultira smanjenjem koncentracije saharoze u plodu. Međutim, manjak saharoze unutar ploda potiče priljev saharoze iz floema u plod, čime se njena koncentracija obnavlja (Wind i sur., 2010). Uz primjerenu opskrbljenost cinkom, osigurava se pravilan rad spomenutih enzima što

rezultira bržom razgradnjom saharoze i akumulacijom jednostavnih šećera u plodu. Nadalje, Bybordi i Shabanov (2010) navode da veće koncentracije cinka povećavaju i enzimatsku aktivnost fruktoza-1,6-bifosfat aldolaze. Vjerojatno zbog toga što sinteza ovog enzima ovisi o cinkovom atomu kao strukturnoj osnovi (Szwergold, 1995). Navedeni enzim sudjeluje u metabolizmu ugljikohidrata tijekom glukoneogeneze i glikolize, a primjerena opskrbljenost biljke cinkom stvara osnovne uvjete za njegovu sintezu. Ipak, veće koncentracije cinkova sulfata nisu rezultirale jednakim količinama topljive suhe tvari u kasnijim berbama budući da iste vjerojatno nisu odgovarale potrebama starije biljke.



Napomena: Prikazane su prosječne vrijednosti \pm SD (standardna devijacija). Različita slova označavaju signifikantne razlike pri $p \leq 0,0001$, promatranih između različitih koncentracija za pojedinačan oblik soli. Utvrđene razlike između korištenih soli uvrštene su zajedno s vrijednostima signifikantnosti (p) u tekstu.

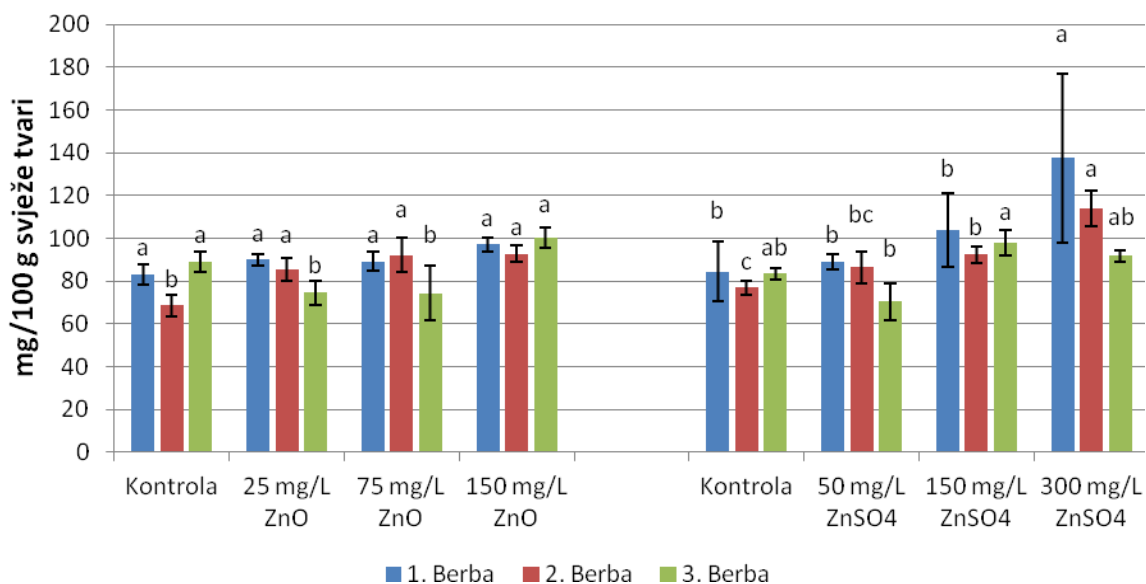
Grafikon 5. Količina topljive suhe tvari ploda jagode sorte 'Albion'

4.5. Količina vitamina C (askorbinska kiselina)

Premda je povećanje koncentracije cinkovog oksida (ZnO) rezultiralo većim količinama vitamina C, nisu zabilježene značajne razlike među tretmanima tijekom prve i druge berbe (Grafikon 6). Suprotno tome, biljke tretirane cinkovim sulfatom ostvarile su značajno različite količine vitamina C tijekom sve tri berbe. Pritom su najveće vrijednosti zabilježene tijekom prve berbe kod biljaka tretiranih koncentracijom od 300 mg/L ZnSO₄ (137,5 mg/100 g svježe tvari). Slično se očitovalo i prilikom druge berbe uz smanjenje količine vitamina C (113,9 mg/100 g svježe tvari). Kazemi (2013; 2015) potvrđuje pozitivan utjecaj većih koncentracija cinkovog sulfata (100 i 150 mg/L) na količinu vitamina C kod biljaka rajčice i jagode. Nadalje, Zhang (2013) u istraživanju utjecaja cinka na kvalitetu različitih sorata jabuke, navodi povećanje razine vitamina C uzrokovano folijarnom primjenom ZnSO₄. Također, Sajid (2010) potvrđuje navode starijih istraživanja (Mdwaradze, 1981; Babu i sur., 1984), opisujući povećanje količine askorbinske kiseline u plodovima citrusa pod utjecajem cinkova sulfata. Brojna istraživanja svjedoče o sličnom utjecaju cinka na količinu vitamina C, međutim rijetko se osvrću na objašnjenja pozadinskih, metaboličkih procesa. Dosad zabilježen pozitivan utjecaj cinka na određena svojstva kvalitete ploda jagode, većinom je bio pripisivan njegovoj važnosti za pravilan rad i sintezu mnogih enzima. Međutim, prema saznanjima iz dostupne literature, isto se ne može reći i za sadržaj vitamina C, budući da su mehanizmi njegove akumulacije drugačiji. Naime, iako su zabilježeni razni pozitivni efekti viših koncentracija cinka (100, 150 i 200 mg/L) kod brojnih biljnih vrsta, opažene su pritom i svojevrstne citološke promjene. Iako cink ne sudjeluje u redoks reakcijama, dosadašnja istraživanja pokazuju da veće koncentracije biogenih metala induciraju oksidativni stres te potiču stvaranje slobodnih radikala (Michael i Krishnaswamy, 2011). Nastale slobodne radikale (O₂, O₂⁻ i H₂O₂) vjerojatno uzrokuju interferencija cinka u elektron-transportni lanac mitohondrija i kloroplasta (Alia i sur., 1995). Navedeno rezultira peroksidacijom lipidnih membrana i oštećenjem stanica. Kako povećane razine slobodnih radikala ne bi rezultirale ometanjem staničnog metabolizma, razvijeni su razni antioksidativni enzimatski i ne-enzimatski mehanizmi (Gilles i Sigler, 1995). Askorbat-peroksidaza i polifenol-oksidaza primjeri su enzima koji aktivno sudjeluju u antioksidaciji štetnih slobodnih radikala, prvenstveno vodikovog peroksida (H₂O₂) (Prasad i sur., 1999; Weckx i Clijsters, 1996). Navedeni enzimi dio su askorbat-glutationskog ciklusa. Iz istoimenog ciklusa deriviraju se i prekursori askorbinske kiseline poput dehidroksiaskorbata (DHA) koji je pak oksidirani oblik askorbata, također formiranog u navedenom ciklusu (Cuypers i sur., 2001). Askorbat-glutationski ciklus izvor je glutaciona koji igra važnu ulogu u redukciji dehidroksiaskorbata u askorbinsku kiselinu (Cuypers i sur., 2001). Asada (2006) utvrđuje da askorbinska kiselina, osim što samostalno anulira slobodne radikale, donira molekularne odsječke za sintezu enzima antioksidacijskog metabolizma (askorbat-peroksidaze i polifenol-oksidaze). Svi navedeni procesi direktno su vezani uz porast koncentracije biogenih metala poput cinka, ali i bakra (Gupta i sur., 1999). Castillo i suradnici (1986) uočavaju porast aktivnosti askorbat-peroksidaze povećanjem koncentracije cinka, pri čemu je i količina vitamina C rasla paralelno sa spomenutim enzimom. Navedeno potvrđuje

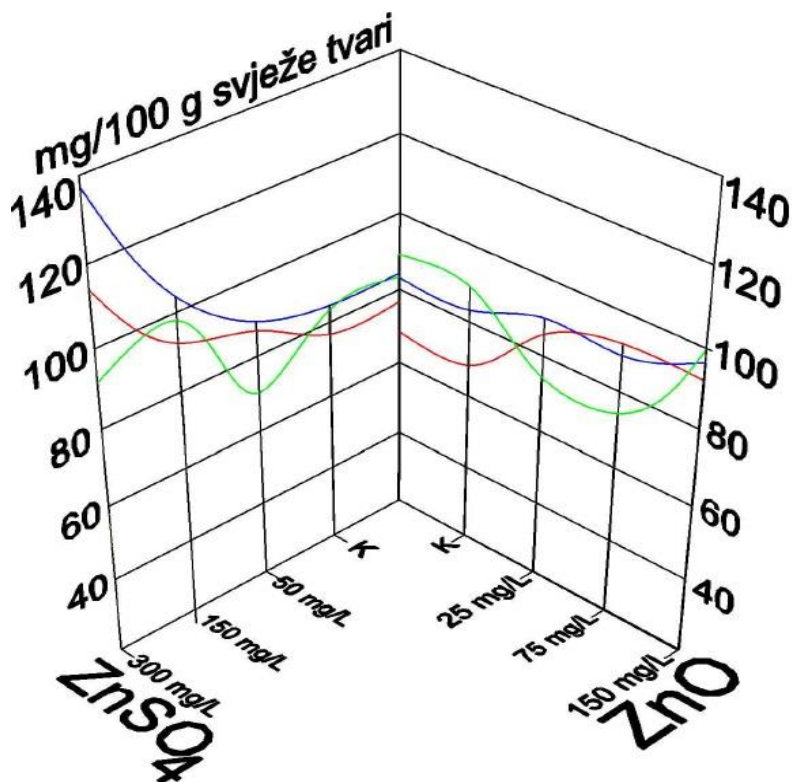
spregu između askorbinske kiseline i enzima askorbat-glutaminskog ciklusa. Također uočeno je i povećanje razine askorbinske kiseline te njenih prekursora povećanjem koncentracije cinka (Cuypers i sur., 2001). Zaključno, količina askorbinske kiseline, kao i aktivnost askorbat-glutaminskog ciklusa, značajno raste pod utjecajem viših koncentracija cinka (Cuypers i sur., 2001; Inbaraj i Krishnaswamy, 2011). Navedeno je zapravo odgovor staničnog metabolizma biljaka na povećanje koncentracije slobodnih radikala (Prasad i sur., 1999) nastalih zbog interferencije cinka u elektron-transportni lanac mitohondrija i kloroplasta.

Veće koncentracije slobodnih radikala stimuliraju antioksidacijske mehanizme i enzime prekursora sinteze vitamina C kojeg karakterizira snažno antioksidativno djelovanje te objašnjava njihov povećan sadržaj pri većim koncentracijama cinka. Povećanje razine cinkova sulfata rezultiralo je većom količinom vitamina C u plodu jagode, sorte 'Albion' tijekom sve tri berbe, što se podudara s prethodno navedenim istraživanjima. Preostaje opisati značajne razlike u količini vitamina C između korištenih oblika cinkovih soli koje su zabilježene pri svakoj berbi (Slika 5). Pritom su se tijekom prve dvije berbe razlikovale koncentracije od 150 mg/L ZnO i 300 mg/L ZnSO₄ a u oba slučaja je sulfatni oblik ostvario veće rezultate uz $p=0,0076$ u prvoj, te $p=0,0004$ u drugoj berbi. Tijekom treće berbe, zabilježena je značajna razlika između korištenih oblika soli pri jednakim koncentracijama cinka od 75 mg/L ZnO (74,3 mg/100 g svježe tvari) i 150 mg/L (91,6 mg/100 g svježe tvari) ZnSO₄ pri $p=0,0006$. Biljke tretirane cinkovim sulfatom ostvarile su veće količine vitamina C u posljednjem slučaju.



Napomena: Prikazane su prosječne vrijednosti \pm SD (standardna devijacija). Različita slova označavaju signifikantne razlike pri $p \leq 0,0001$, promatranih između različitih koncentracija za pojedinačan oblik soli. Utvrđene razlike između korištenih soli uvrštene su zajedno s vrijednostima signifikantnosti (p) u tekstu.

Grafikon 6. Količina vitamina C ploda jagode sorte 'Albion'

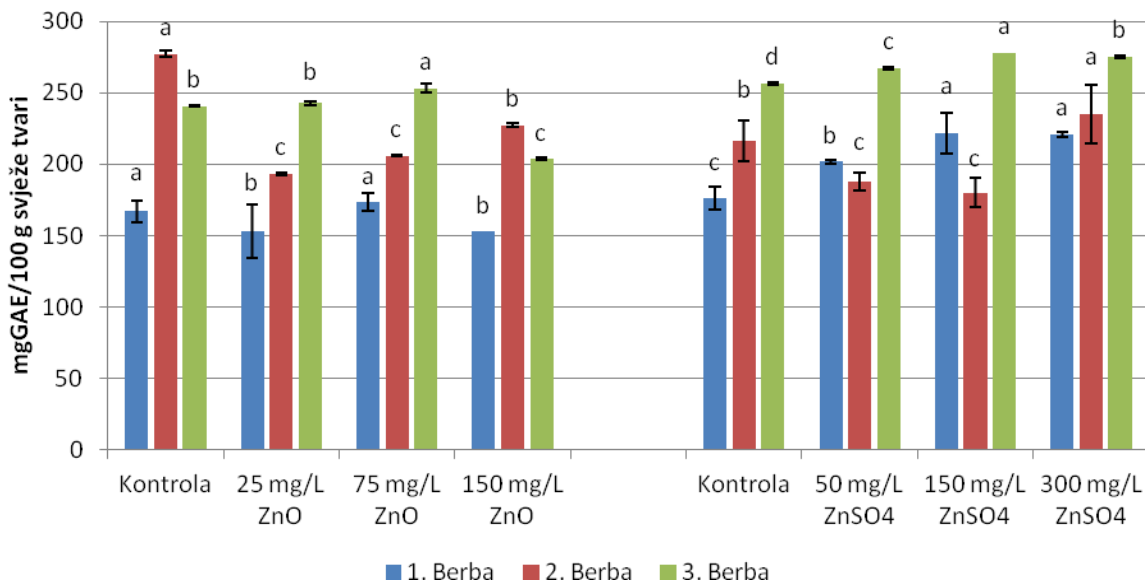


Napomena: Plava linija opisuje vrijednosti tijekom prve, crvena tijekom druge a zelena tijekom treće berbe

Slika 5. Usporedba utjecaja korištenih soli na količinu vitamina C u plodu jagode sorte 'Albion'

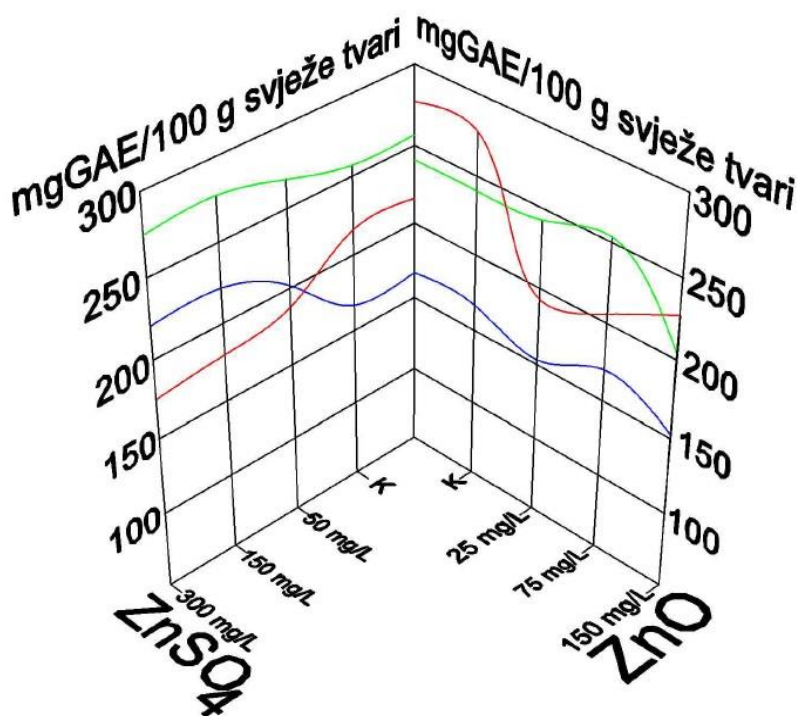
4.6. Količina ukupnih fenola i flavonoida

Količina ukupnih fenola značajno je varirala između različitih koncentracija cinka, neovisno o korištenoj soli (Grafikon 7). Tijekom prve berbe, biljke tretirane cinkovim oksidom (ZnO) zabilježile su najveće količine ukupnih fenola pri koncentraciji od 75 mg/L (173,2 mg GAE/100 g svježe tvari). Istovremeno je slično zabilježeno i kod biljaka tretiranih cinkovim sulfatom pri čemu je ekvivalentna koncentracija cinka dodanog u sulfatnom obliku (150 mg/L ZnSO₄) rezultirala najvećom količinom ukupnih fenola (222 mg GAE/100 g svježe tvari). Tijekom drugog roka berbe svi tretmani cinkovim oksidom ostvarili su manje razine ukupnih fenola od kontrolne skupine (Grafikon 7). Istovremeno, biljke tretirane cinkovim sulfatom u koncentraciji od 300 mg/L ZnSO₄ ostvarile su najveće količine fenola (235,1 mg GAE /100 g svježe tvari). Najveće količine ukupnih fenola u trećem roku berbe zabilježile su biljke tretirane koncentracijom od 75 mg/L ZnO (253,3 mg GAE/100 g svježe tvari) i njenim sulfatnim ekvivalentom od 150 mg/L ZnSO₄ (277,7 mg GAE/100 g svježe tvari). Značajne razlike između korištenih soli zabilježene su tijekom prve i treće berbe pri čemu su po količini ukupnih fenola sve koncentracije cinkovog oksida (25, 75 i 150 mg/L ZnO) ostvarile značajno manje ($p \leq 0,0001$) vrijednosti od njima odgovarajućih koncentracija cinka, primjenjenih u sulfatnom obliku.



Napomena: Prikazane su prosječne vrijednosti \pm SD (standardna devijacija). Različita slova označavaju signifikantne razlike pri $p \leq 0,0001$, promatranih između različitih koncentracija za pojedinačan obliksoli. Utvrđene razlike između korištenih soli uvrštene su zajedno s vrijednostima signifikantnosti (p) u tekstu.

Grafikon 7. Količina ukupnih fenola u plodu jagode sorte 'Albion'

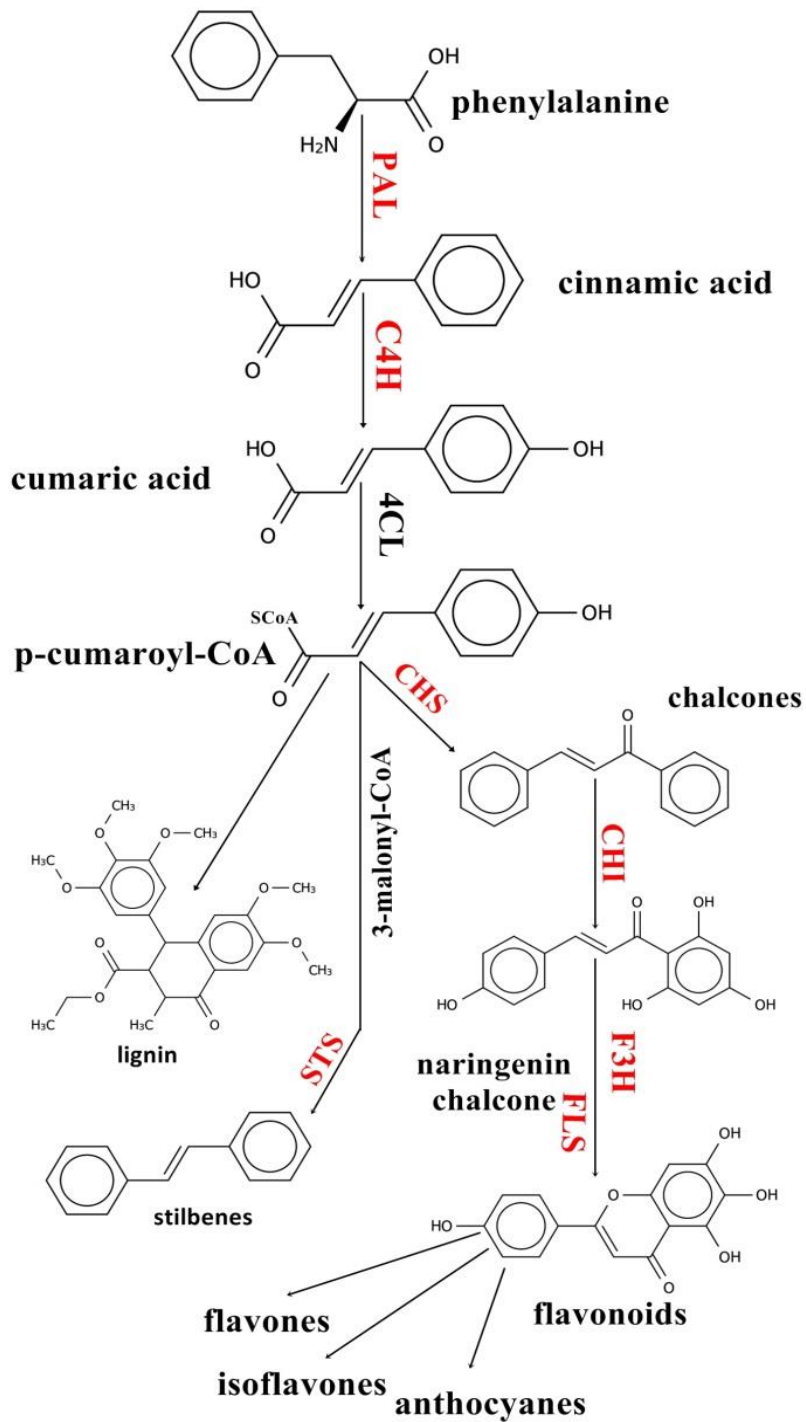


Napomena: Plava linija opisuje vrijednosti tijekom prve, crvena tijekom druge a zelena tijekom treće berbe.

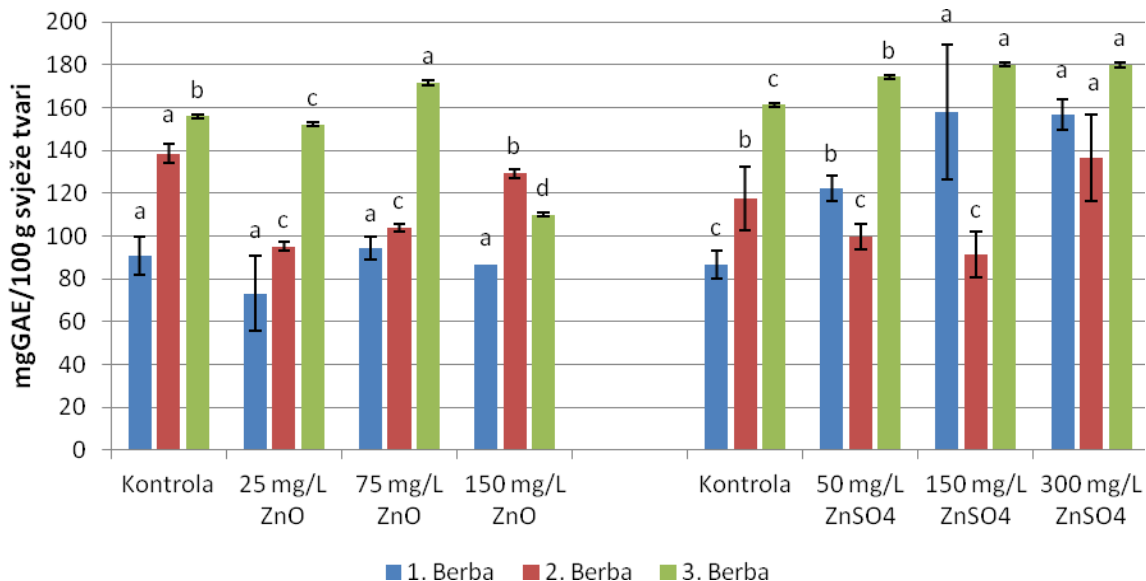
Slika 6. Usporedba utjecaja korištenih soli na količinu ukupnih fenola u plodu jagode sorte 'Albion'

Kako bi se objasnili prikazani rezultati potrebno je poznavati ulogu cinka u metabolizmu proteina. Interpretaciju dobivenih rezultata otežava međuovisnost brojnih molekula i metaboličkih puteva, no pomoću suvremene real time PCR metode za kvantifikaciju specifičnih molekula DNK, moguće je pojasniti utjecaj cinka na sintezu fenola. Ranije je spomenuta strukturalna uloga cinka u ribosomima na kojima se odvija sinteza proteina, kao i sposobnost cinka da veže slobodne aminokiseline u veće proteinske cjeline (Cakmak i sur., 1989). Međutim, otkrićem molekularnih struktura zvanih „cink-prsti“ ispostavilo se da je uloga cinka u metabolizmu stanica značajnija nego što se prethodno pretpostavljalo. Naime, „cink-prsti“ su relativno male proteinske strukture čiji prostorni oblik koordinira jedan ili više cinkovih iona (Kaur i sur., 2016). Danas su klasificirani razni tipovi ovih trodimenzionalnih proteinskih struktura, a većinom služe kao svojevrsni vezivni moduli između molekula DNK, RNK ili različitih proteina. Ove proteinske strukture sadrže brojna izduženja koja podsjećaju na prste kojima vežu ciljane molekule. Ovisno o ciljanoj molekuli, mijenja se i konformacija ovih proteina vezanjem ili otpuštanjem iona cinka (Klug, 2010). Esencijalne aminokiseline poput histidina i cisteina vežu cinkove atome i formiraju peptidne strukture koje se vežu za nukleotidni triplet DNK molekula (Heldt i Piechulla, 2011). Tako nastali „cink-prsti“ postaju transkripcijski faktori koji mogu regulirati transkripciju i ekspresiju gena. Točnije, budući da takvi transkripcijski faktori obično sadrže od 3 do 9 „prstiju“, od kojih svaki veže po 3 nukleotida na DNK molekuli, u mogućnosti su inhibirati ili pojačati ekspresiju određenih gena (Segal i sur., 1999). O važnosti „cink-prstiju“ kao regulatornih faktora transkripcije svjedoči i Takatsuji (1998) tvrdnjom da je modulacija transkripcijske aktivnosti temelj regulacije ekspresije gena. Mnogi od ovih proteinskih struktura uočeni su u važnim biološkim procesima poput morfogeneze te imunoloških odgovora biljaka na patogene (Takatsuji, 1998). Važno je spomenuti da je moguće pratiti utjecaj cinka i spomenutih proteinskih struktura na ekspresiju gena i to upotrebom specifičnih metoda poput „real-time PCR“ tehnike. Navedenom tehnikom moguće je ustanoviti koji će geni biti aktivnije uključeni te kako će se to odraziti na metaboličke puteve kojima ti geni upravljaju. Takvo istraživanje proveli su Song i sur. (2015) pri čemu je praćen utjecaj različitih koncentracija cinka na ekspresiju gena koji reguliraju biosintezu fenolnih spojeva kod vinove loze. Ustanovljeno je da su pri većim koncentracijama cinkova sulfata geni koji reguliraju sintezu fenola, bili izraženiji. Genski izražaj (ekspresija) je izraz za proces kojim se informacija koju nosi određeni gen prevodi u funkcionalne genetske produkte poput proteina koji kasnije mogu biti sastavne jedinice određenih enzima. Shodno tome, pojedini geni mogu biti promotori raznih enzimatskih reakcija u sintezi fenola. Primjerice VvPAL gen promovira sintezu fenilalanin amonijak lijaze (PAL), enzima kojim započinje biosinteza fenola (Jiu i sur., 2016). Pojačanom ekspresijom tog gena, koju su uzrokovale veće koncentracije $ZnSO_4$, povećava se i koncentracija PAL enzima koji sudjeluje u sintezi fenolnih spojeva (Song i sur., 2015). Naime, PAL enzim katalizira sintezu cimetine kiseline iz fenilalanina čime započinje sinteza fenola (Slika 7). Različiti geni (VvPAL, VvSTS29, VvCHI, VvF3H) potiču sintezu enzima koji sudjeluju u sintezi fenola i flavonoida, a Song i sur. (2015) su zabilježili pojačanu ekspresiju tih gena pri većim koncentracijama $ZnSO_4$. Tako se primjerice, ekspresija VvPAL gena povećala pri najvećoj koncentraciji $ZnSO_4$ (folijarna primjena 8 g/L, dva tjedna prije i nakon cvatnje). Ekspresija

VvSTS29 gena koji promovira sintezu enzima stilben sintaze (STS) povećana je pod utjecajem folijarne aplikacije 1 g/L ZnSO₄. Stilben sintaza je enzim zaslužan za sintezu stilbena, fenolnih spojeva antimikrobnog djelovanja, korisnih za obranu od patogena (Dai i sur., 2012). Također, zabilježen je i pozitivan utjecaj cinka na koncentraciju flavonoida, spojeva koji štite biljku od štetnog UV zračenja te napada štetnika, a služe i kao signalne molekule. Song i sur. (2015) navode da su veće koncentracije cinka rezultirale većom ekspresijom VvCHI i VvCHS gena koji reguliraju sintezu halkon sintaze (CHS) i halkon izomeraze (CHI), odnosno enzima zaslužnih za sintezu flavonoidnih spojeva (Slika 7). Slično potvrđuju Muir i sur. (2001) ustanovivši da povećana ekspresija VvCHI gena rezultira većom koncentracijom halkon izomeraze, a time i višim koncentracijama flavonoida u plodu rajčice. Uz navedeno, uočena je i pojačana ekspresija VvF3H gena ključnog za sintezu flavonoida iz naringenin halkona i to ponovno pod utjecajem većih koncentracija cinka (Song i sur., 2015). Navedeno se poklapa s dobivenim rezultatima količine ukupnih flavonoida iz ovog istraživanja. Naime, veće koncentracije cinkova sulfata (150 i 300 mg/L) ostvarile su značajno najveće vrijednosti ukupnih flavonoida tijekom prve berbe (157,89 i 156,6 mg GAE/100 g svježe tvari). Sličan trend zabilježen je i tijekom treće berbe kada su zabilježene najveće vrijednosti količine ukupnih flavonoida (179,9 mg GAE/100 g svježe tvari) kod najvećih koncentracija cinkova sulfata. Također, vidljiv je porast količine ukupnih fenola i flavonoida odmakom vremena berbe (Grafikon 7 i 8) što vjerojatno upućuje na akumulaciju ovih spojeva starenjem biljke. Tijekom prve i treće berbe, razvidne su signifikantne razlike između korištenih cinkovih soli. Pritom su značajno veće vrijednosti ukupnih flavonoida zabilježene kod svih primijenjenih koncentracija cinkovog sulfata (50, 150 i 300 mg/L) u odnosu na jednake koncentracije cinka primijenjenog u obliku cinkovog oksida, pri $p \leq 0,0001$ (Slika 8).

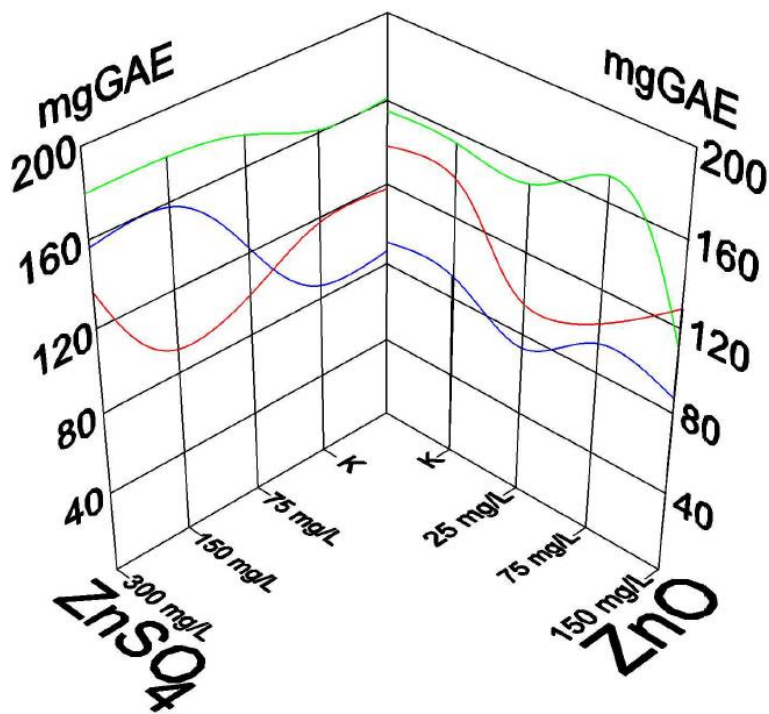


Slika 7. Biosinteza fenola i fenolnih spojeva. Enzimi regulirani VvPAL, VvSTS29, VvCHI, VvCHS i VvF3H genima označeni su crvenom bojom. Na ekspresiju navedenih gena utječe cink (Cukrov, 2017. prema Song i sur., 2015).



Napomena: Prikazane su prosječne vrijednosti \pm SD (standardna devijacija). Različita slova označavaju signifikantne razlike pri $p \leq 0,0001$, promatranih između različitih koncentracija za pojedinačan obliksoli. Utvrđene razlike između korištenih soli uvrštene su zajedno s vrijednostima signifikantnosti (p) u tekstu.

Grafikon 8. Količina ukupnih flavonoida ploda jagode sorte 'Albion'

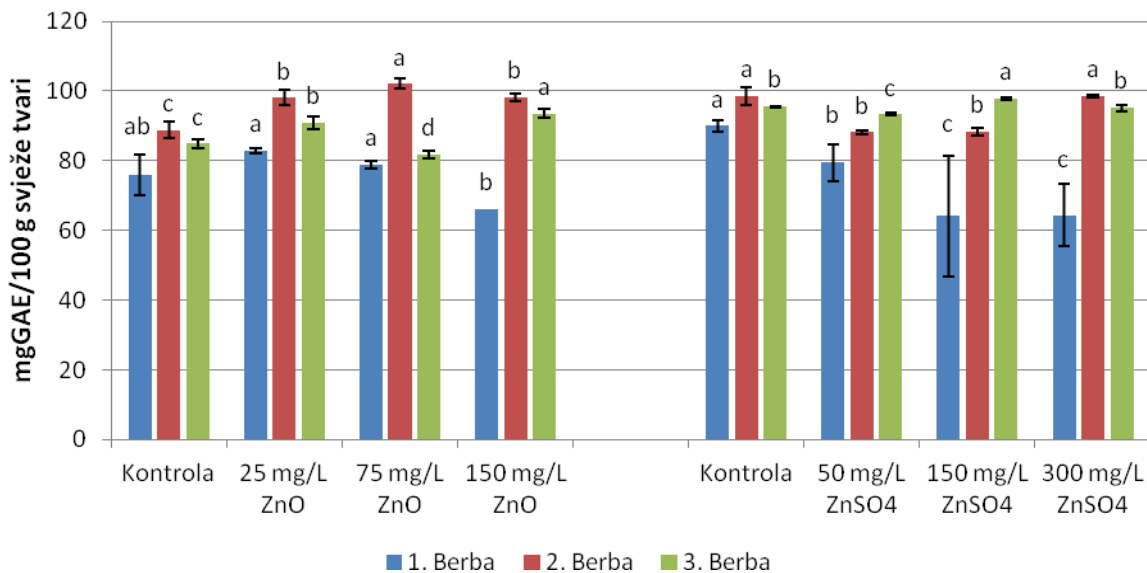


Napomena: Plava linija opisuje vrijednosti tijekom prve, crvena tijekom druge a zelena tijekom treće berbe.

Slika 8. Usporedba utjecaja korištenih soli na količinu ukupnih flavonoida ploda jagode sorte 'Albion'

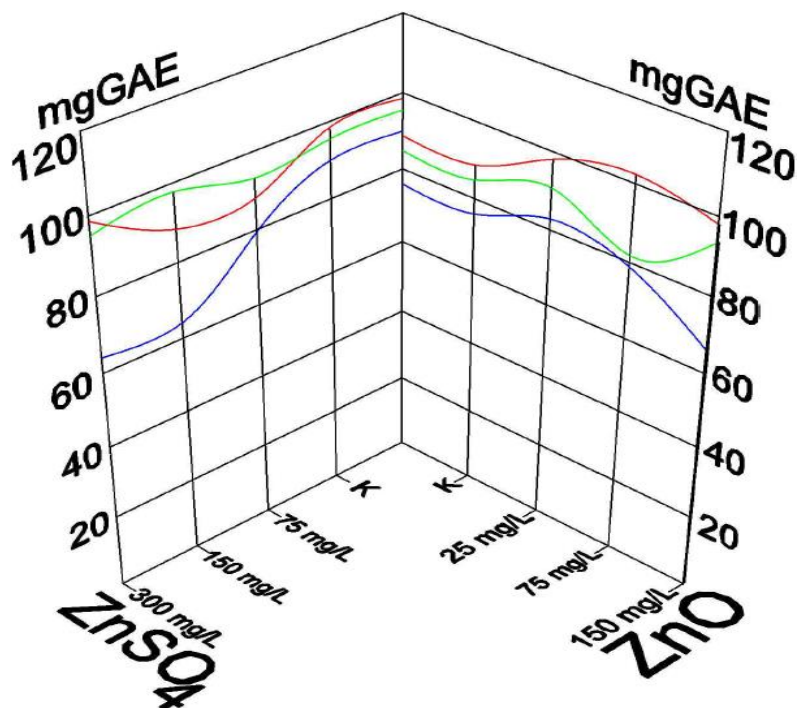
4.7. Količina ukupnih neflavonoida

Količina ukupnih neflavonoida tijekom prve berbe smanjivala se povećanjem koncentracije cinka, neovisno o korištenoj soli. Suprotno trendu iz prve berbe, biljke tretirane cinkovim oksidom značajno su se razlikovale od kontrolne skupine tijekom druge berbe. Pritom je najveća količina neflavonoida zabilježena pri koncentraciji cinka od 75 mg/L ZnO (102,06 mg GAE/100 g svježe tvari). Tijekom treće berbe, vidljivo je značajno smanjenje količine neflavonoida kod biljaka tretiranih cinkovim oksidom (Grafikon 9) pri čemu je najveća koncentracija primijenjenog cinkova oksida (150 mg/L) ostvarila i najveću vrijednost ukupnih neflavonoida (93,54 mg GAE/100 g svježe tvari). Biljke tretirane cinkovim sulfatom tijekom druge berbe nisu ostvarile značajno veću količinu neflavonoida u odnosu na kontrolnu skupinu, a u trećoj berbi najveći rezultat zabilježen je pri koncentraciji od 150 mg/L ZnSO₄ (97,78 mg GAE/100 g svježe tvari). Značajne razlike u količini neflavonoida zabilježene su između korištenih soli. Pritom su tijekom prve i druge berbe značajno veće vrijednosti neflavonoida ostvarene pri koncentracijama cinkovog oksida od 75 i 150 mg/L ZnO ($p=0,0026$ tijekom prve i $p\leq 0,0001$ tijekom druge berbe) u odnosu na sulfatni oblik cinka. Ipak, u trećem roku berbe biljke tretirane koncentracijama cinkovog sulfata od 50 i 150 mg/L ostvarile su značajno ($p=0,0126$ i $p\leq 0,0001$) veće količine neflavonoida u odnosu na one tretirane cinkovim oksidom. Budući da su neflavonoidi, kao i flavonoidi, produkti metaboličkog puta biosinteze fenola njihova koncentracija ovisi o razini ukupnih fenola, ali i flavonoida. Iz prethodno prikazanog grafikona (Grafikon 9), uočljiv je značajan porast količine neflavonoida tijekom druge berbe što je proporcionalno značajnom padu razine flavonoida (Grafikon 8) tijekom istog roka berbe. Neflavonoide uglavnom čine fenolne kiseline koje se mogu podijeliti u dvije skupine: derivati benzojeve kiseline (kao što je galna kiselina) i derivati cimetine kiseline (kumarinska i ferulinska kiselina). Nemoguće je govoriti o izravnoj ulozi cinka na sintezu spomenutih kiselina, međutim prethodno razjašnjen utjecaj cinka na ekspresiju gena koji reguliraju biosintezu fenola, mogao bi pomoći u opisu dobivenih rezultata. Naime, veće koncentracije cinkova sulfata rezultirale su većom sintezom ukupnih fenolnih spojeva (Grafikon 7). Shodno tome, porast razine neflavonoida vjerojatnije je uzrokovan povećanjem koncentracije ukupnih fenolnih spojeva nego izravnim utjecajem cinka. Promatrajući sve tri berbe, uočljivo je da su veće koncentracije cinkova sulfata značajnije i pozitivnije utjecale na sintezu flavonoida, dok su količine neflavonoida često bile slične ili niže od onih zabilježenih kod biljaka kontrolne skupine.



Napomena: Prikazane su prosječne vrijednosti \pm SD (standardna devijacija). Različita slova označavaju signifikantne razlike pri $p \leq 0,0001$, promatranih između različitih koncentracija za pojedinačan oblik soli. Utvrđene razlike između korištenih soli uvrštene su zajedno s vrijednostima signifikantnosti (p) u tekstu.

Grafikon 9. Količina ukupnih neflavonoida u plodu jagode sorte 'Albion'



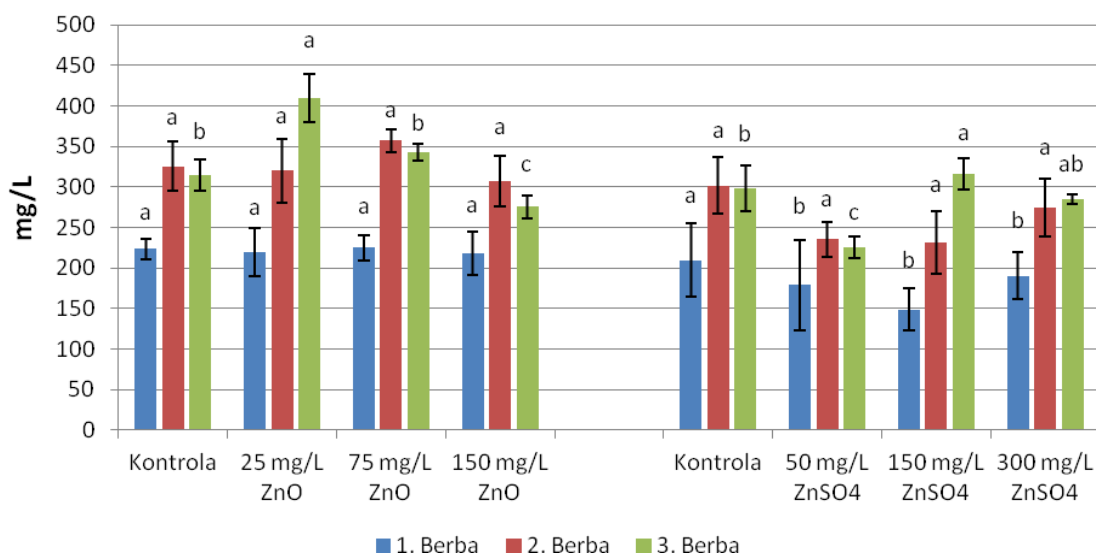
Napomena: Plava linija opisuje vrijednosti tijekom prve, crvena tijekom druge a zelena tijekom treće berbe.

Slika 9. Usporedba utjecaja korištenih soli na količinu ukupnih neflavonoida ploda jagode sorte 'Albion'

4.8. Količina ukupnih antocijana

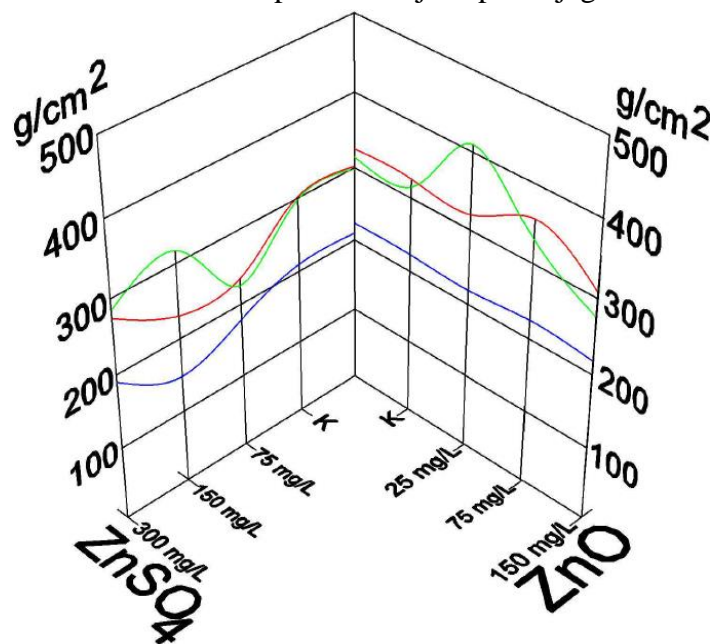
Tijekom prve berbe, neovisno o primijenjenoj koncentraciji, nisu zabilježene značajne razlike u količini ukupnih antocijana kod biljaka tretiranih cinkovim oksidom (ZnO). Slično je zabilježeno i kod plodova tretiranih cinkovim sulfatom (ZnSO₄) pri čemu su sve primijenjene koncentracije ostvarile značajno manje rezultate od kontrolne skupine (Grafikon 10). Slično je zabilježeno i tijekom druge berbe. Najveća količina ukupnih antocijana zabilježena je pri koncentraciji od 25 mg/L ZnO (409,38 mg/L) tijekom treće berbe, a daljnim povećavanjem koncentracije cinkovog oksida zabilježen je pad količine ukupnih antocijana (Grafikon 10). Iz prikazanog grafikona vidljiva je vrijednosno veća količina ukupnih antocijana kod biljaka tretiranih cinkovim oksidom tijekom svih berbi. Uspoređujući obje korištene soli tijekom prve berbe utvrđene su značajno veće vrijednosti ($p=0,0114$) ukupnih antocijana kod biljaka tretiranih cinkovim oksidom pri koncentraciji od 25 mg/L u odnosu na sulfatni oblik (ZnSO₄) u koncentraciji od 50 mg/L. Sličan trend zabilježen je kod navedene koncentracije cinka i tijekom druge i treće berbe sa statistički signifikantnih razlikama ($p=0,0048$; ($p\leq 0,0001$)) (Slika 9). Pritom su u oba slučaja veće vrijednosti zabilježene kod biljaka tretiranih cinkovim oksidom.

Sinteza antocijana u plodu jagode isključivo je vezana uz put fenilpropanoidnog lanca (Cheng i Breen, 1991), dok biosintezi antocijana prethodi sinteza flavonoida. Budući da su antocijani produkti biosinteze flavonoida (Slika 7), njihova sinteza uvelike ovisi i o reakcijama koje im prethode, ali i prekursorima koji u njima sudjeluju (Springob i sur., 2003). Tako primjerice Song i sur. (2015) navode kako bi veće koncentracije flavonoida, nastale pojačanom ekspresijom gena pod utjecajem cinka, mogle rezultirati i povišenim koncentracijama antocijana. Tretmani cinkovim sulfatom značajno su pojačali ekspresiju prethodno spomenutih gena uključenih u sintezu fenola (VvPAL, VvSTS29, VvCHS, VvCHI) u svim fazama razvoja ploda vinove loze, međutim isto se ne može reći i za gene koji reguliraju biosintezu antocijana (Song i sur., 2015). Upravo suprotno, geni zaslužni za sintezu antocijana (VvLDOX) u fazi zrelog ploda bili su inhibirani većim koncentracijama cinka. Shodno tome, moguće je pojasniti dobivene rezultate iz ovog istraživanja. Manje vrijednosti količine antocijana zabilježene su upravo kod biljaka tretiranih cinkovim sulfatom. Lakša topljivost ove soli rezultirala je snažnijim usvajanjem cinka unutar biljke, a time je veća koncentracija cinka vjerojatno posljedično inhibirala VvLDOX gen i utjecala na sintezu antocijana. Navedeno je rezultiralo manjim količinama antocijana u odnosu na biljke tretirane cinkovim oksidom koji je teže topiv, čime je koncentracija cinka kao inhibitora bila manja. Međutim, nemoguće je sa sigurnošću obrazlagati dobivene rezultate budući da je sinteza antocijana uvjetovana mnogim egzogenim i endogenim čimbenicima. Temperatura i svjetlo samo su jedan od primjera egzogenih čimbenika koji utječu na sintezu antocijana (Soubeyrand i sur., 2014). Kao jedan od primjera endogenih čimbenika moguće je navesti utjecaj saharoze na ekspresiju gena koji sudjeluju u biosintezi antocijana. Ustanovljeno je da saharoza kao signalna molekula može inhibirati ili pojačati ekspresiju spomenutih gena (Solfanelli i sur., 2006). Navedeno otežava donošenje zaključaka o isključivom utjecaju cinka na količinu ukupnih antocijana ploda jagode.



Napomena: Prikazane su prosječne vrijednosti \pm SD (standardna devijacija). Različita slova označavaju signifikantne razlike pri $p \leq 0,0001$, promatranih između različitih koncentracija za pojedinačan oblik soli. Utvrđene razlike između korištenih soli uvrštene su zajedno s vrijednostima signifikantnosti (p) u tekstu.

Grafikon 10. Količina ukupnih antocijana ploda jagode sorte 'Albion'

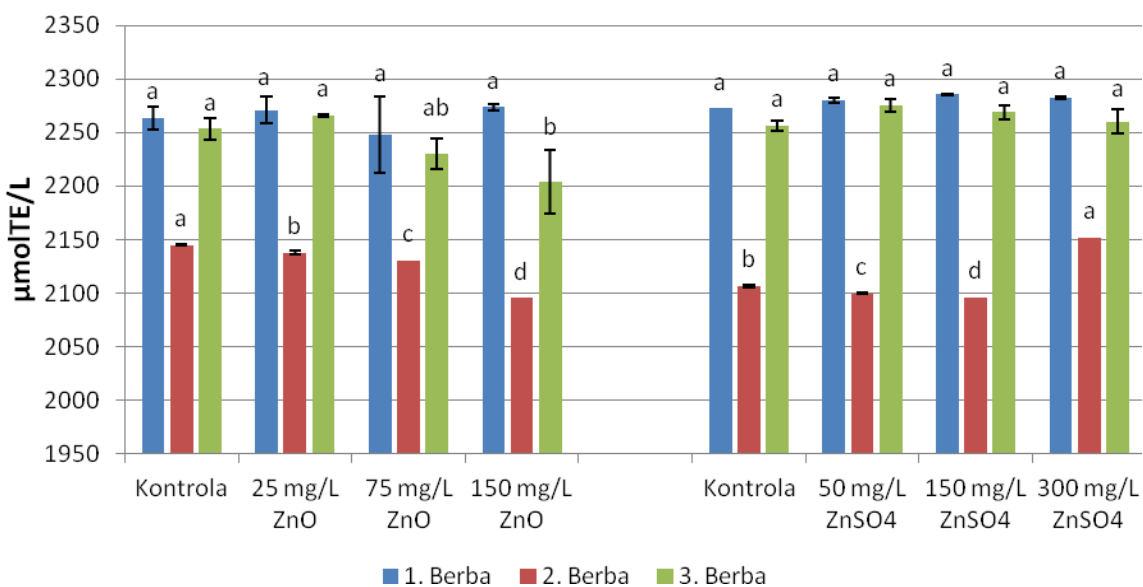


Napomena: Plava linija opisuje vrijednosti tijekom prve, crvena tijekom druge a zelena tijekom treće berbe.

Slika 10. Usporedba utjecaja korištenih soli na količinu ukupnih antocijana ploda jagode sorte 'Albion'

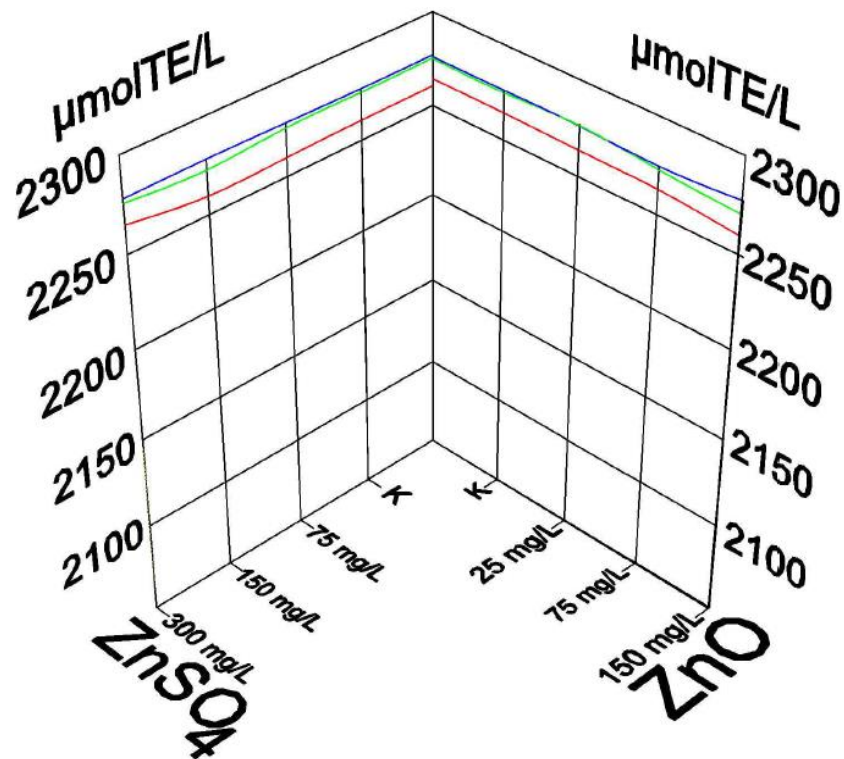
4.9. Antioksidacijski kapacitet

Tijekom prve berbe, neovisno o primijenjenom obliku cinka (ZnO ili ZnSO₄), nisu zabilježene značajne razlike antioksidacijskog kapaciteta među različitim koncentracijama (Grafikon 10). Istovremeno su se vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta kretale od 2248 do 2285 $\mu\text{mol TE/L}$ nakon čega je tijekom druge berbe uočen značajan pad navedenih vrijednosti kod obje korištene soli. Pritom je kod biljaka tretiranih cinkovim oksidom zabilježen značajan pad vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta povećanjem koncentracije cinka. Sličan trend zabilježen je i kod trećeg roka berbe pri čemu je najveća vrijednost antioksidacijskog kapaciteta zabilježena kod biljaka tretiranih s 25 mg/L ZnO (2265,75 $\mu\text{mol TE/L}$). Istovremeno, biljke tretirane cinkovim sulfatom nisu zabilježile značajne razlike između tretmana (Grafikon 10). Tijekom prve ($p=0,0046$) i treće ($p=0,0027$) berbe značajno veće vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta ostvarene su korištenjem cinkovog sulfata u koncentraciji od 150 mg/L u odnosu na oksidni oblik od 75 mg/L ZnO. Također, tijekom druge i treće berbe zabilježena je značajno ($p\leq 0,0001$) veća vrijednost antioksidacijskog kapaciteta korištenjem sulfatne soli pri 300 mg/L u odnosu na jednaku koncentraciju cinka pri 150 mg/L ZnO.



Napomena: Prikazane su prosječne vrijednosti \pm SD (standardna devijacija). Različita slova označavaju signifikantne razlike pri $p\leq 0,0001$, promatranih između različitih koncentracija za pojedinačan oblik soli. Utvrđene razlike između korištenih soli uvrštene su zajedno s vrijednostima signifikantnosti (p) u tekstu.

Grafikon 11. Antioksidacijski kapacitet ploda jagode, sorta Albion.



Napomena: Plava linija opisuje vrijednosti tijekom prve, crvena tijekom druge a zelena tijekom treće berbe.

Slika 11. Usporedba utjecaja korištenih soli na antioksidacijski kapacitet ploda jagode sorte 'Albion'

Razne studije (Prior i Cao, 1999; Majdoub i sur., 2017) dokazale su pozitivnu korelaciju između količine ukupnih fenola i antocijana te antioksidacijskog kapaciteta. Sugerirajući pritom da povećanjem količine spomenutih spojeva dolazi i do povećanja ukupnog antioksidacijskog kapaciteta. Nadalje, Tavallali i suradnici (2017) potvrđuju pozitivnu ulogu cinka u akumulaciji ukupnih fenola te istovremeno bilježe i porast antioksidacijskog kapaciteta anisa. Premda je u ovom istraživanju prethodno zabilježen porast ukupnih fenola, flavonoida i antocijana povećanjem koncentracije cinka, nisu ostvarene značajne razlike u vrijednostima antioksidacijskog kapaciteta između različitih tretmana cinkom. Razlog tome vjerojatno leži u činjenici da i brojni drugi spojevi i enzimi utječu na razinu antioksidacijskog kapaciteta biljaka. Antioksidacijski kapacitet je dodatno uvjetovan i genetskim predispozicijama (Wang i Lin, 2000) te abiotičkim čimbenicima. Budući da su svi tretmani zabilježili slične vrijednosti kao i kontrolne skupine biljaka razvidno je da cink nije značajnije utjecao na navedeno svojstvo. Ipak, potrebno je osvrnuti se na pad vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta tijekom drugog roka berbe. Naime, budući da su sve biljke, uključujući i one iz kontrolne skupine, zabilježile značajan pad vrijednosti tijekom druge berbe nemoguće je govoriti o utjecaju cinka na ovo svojstvo. Međutim, abiotički čimbenici poput svjetla (Zhu i sur., 2017) i topline (Hansawasdi i sur., 2006) značajno mogu utjecati na antioksidacijski kapacitet biljke. Promotri li se prikaz kretanja temperature zraka i fotosintetske aktivne radijacije (Grafikon 1), uočljiv je kontinuirani pad vrijednosti iluminacije u

trajanju od 6 dana, prije drugog roka berbe (15. svibnja). Navedeno je vjerojatno uzrokovalo pad vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta za 100-170 $\mu\text{mol TE/L}$ (Grafikon 11). Spomenuto se podudara s navodima drugih autora koji bilježe smanjenje antioksidativne aktivnosti pri uvjetima slabijeg osvjetljenja (Zhu i sur., 2017; Lourdes i sur., 2014).

5. Zaključci

Temeljem provedenog istraživanja djelovanja različitih koncentracija cinkova oksida (ZnO) i cinkova sulfata (ZnSO₄) na kvalitetu ploda jagode može se zaključiti:

1. Proporcionalno povećanju koncentracije cinkova oksida (ZnO) i sulfata (ZnSO₄) rasla je i tvrdoća ploda, što se može pozitivno odraziti na očuvanje ploda prilikom transporta ili skladištenja.
2. Primjena cinkovih soli nije značajno utjecala na akumulaciju suhe tvari ploda tijekom prve berbe, međutim povećanjem koncentracije cinka vjerojatno je stimulirana aktivnost ugljične anhidraze što je rezultiralo porastom vrijednosti sadržaja suhe tvari u kasnijim rokovima berbe.
3. Sadržaj ukupnih kiselina ploda rastao je pod utjecajem cinkova sulfata, no u posljednjoj berbi, veće koncentracije ZnO (75 i 150 mg/L) rezultiraju padom sadržaja ukupnih kiselina.
4. Tretmani cinkovim sulfatom ostvarili su veći sadržaj ukupnih šećera. Pojačana aktivnost enzima (saharoza sintaza, sorbitol dehidrogenaza, fruktoza-1,6-bifosfat aldolaza) koji reguliraju metabolizam ugljikohidrata, a sadrže cink u svojoj strukturi, objašnjava navedeni rezultat.
5. Tretmani cinkovim sulfatom ostvarili su veći sadržaj vitamina C. Interferencija cinka u elektron transportni lanac mitohondrija i kloroplasta oslobađa veći broj oksidnih radikala što vjerojatno stimulira sintezu antioksidacijskih mehanizama i vitamina C.
6. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida značajnije je rastao pod utjecajem većih koncentracija cinkova sulfata. Vjerojatno je razlog tome pojačana ekspresija gena (VvPAL, VvSTS29, VvCHS, VvCHI) zaslužnih za sintezu enzima koji sudjeluju u biosintezi fenola. Cinkov oksid je pak značajnije utjecao na sadržaj ukupnih neflavonoida i antocijana.
7. Veće koncentracije cinka, neovisno o korištenoj soli, nisu značajnije utjecale na antioksidacijski kapacitet ploda jagode.

Poznavanjem zahtjeva jagode prema cinku moguće je unaprijediti uzgoj te osigurati veću nutritivnu i zdravstvenu vrijednost plodova ove vrste. Cink doprinosi potpunom ostvarenju genetskih predispozicija jagode, a njegov nedostatak rezultira slabijom kvalitetom ploda. Stoga je pravilno gospodarenje ovim mikroelementom od iznimne važnosti a njegova uloga u biljci neupitna.

6. Popis literature

1. Aaby K., Mazur S., Nes A., Skrede G. (2012). Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry*, 132: 86-97.
2. Aaby K., Skrede G., Wrolstad R. E. (2005). Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4032–4040.
3. Abedy A. (2001). Effects of zinc sulfate and citric acid spray on fruit characteristics of tomato cultivar 'Urbana'. MSc. thesis, Shiraz University, Iran.
4. Abreu I. A., Cabelli D. E. (2010). Superoxide dismutases – a review of the metal-associated mechanistic variations. *Acta Biochimica et Biophysica*, 1804(2): 263-274.
5. Alia K. V., Prasad S. K., Pardha Saradhi P. (1995). Effect of zinc on free radicals and proline in Brassica and Cajanus. *Phytochemistry*, 39(1): 45-47.
6. Alloway J. B. (2008). *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*. Springer Science. ISBN: 978-1-4020-6859-1.
7. Andreini C. i Bertini I. (2012). A bioinformatics view of zinc enzymes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 111: 150-156.
8. Asada K. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, 141: 391-396.
9. Auld D. S. (2009). The ins and outs of biological zinc sites. *Biometals*, 22(1):141-148.
10. Babu R. S. H., Rajpal C. B. S., Rath S. (1984). Effect of zinc, 2,4-D and GA3 in Kagzi lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) on fruit quality. *Haryana Journal of Horticultural Science*, 11: 59-65.
11. Blagojević R. (2012). *Tehnologija proizvodnje jagode*. Naklada Grafomis d.o.o., Niš.
12. Buendia B., Gil M. I., Tudela J. A., Gady A. L., Medina J. J., Soria C. (2010). HPLC–MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7): 3916–3926.
13. Bybordi A., Shabanov J. A. (2010). Effects of the foliar application of magnesium and zinc on the yield and quality of three grape cultivars grown in calcereous soils of Iran. *Notulae Scientia Biologicae*, 2(1): 2067-3205.
14. Cakmak I. (2000). Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytologist*, 146: 185-205.
15. Cakmak I. (2005). Role of Mineral Nutrients in Tolerance of Crop Plants to Environmental Stress Factors. *Plant Cell Physiology*. 47(5): 1-40.
16. Cakmak I. i Marschner H. (1988a). Zinc dependent changes in ESR signals, NADPH oxidase and plasma membrane permeability in cotton roots. *Physiologia Plantarum*, 73: 182-186.
17. Cakmak I. i Marschner H. (1988b). Enhanced Superoxide Radical Production in Roots of Zinc-Deficient Plants. *Journal of Experimental Botany*, 39(207): 1449-1460.

18. Cakmak I. i Marschner H. (1989). Effect of Zinc Nutritional Status on Growth, Protein Metabolism and Levels of Indole-3-acetic Acid and other Phytohormones in Bean (*Phaseolus vulgaris*. L). *Journal of Experimental Botany*, 40(3): 405-412.
19. Cakmak I., Kalayci M., Kaya Y., Torun A. A., Aydin N., Wang Y., Arisoy Z., Erdem H., Yazici A., Gokmen O., Ozturk L. i Horst W. J. (2010). Biofortification and Localization of Zinc in Wheat Grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 9092-9102.
20. Castillo F. J., Cotton G., Kevers C., Greppin H., Gaspar T., Vanden Driessche T. (1986). Changes in ascorbic acid content and ascorbate peroxidase activity during the development of *Acetabularia mediterranea*. *Differentiation*, 33: 17-23.
21. Chaturvedi O. P., Singh A. K., Tripathi V. K., Dixit A. K. (2005). Effect of Zinc and Iron on Growth, Yield and Quality of Strawberry cv. 'Chandler'. *Acta Horticulturae*, 696: 237-240.
22. Cheng G. W., Breen P. (1991). Activity of Phenylalanine Ammonia-Lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116(5): 865-869.
23. Clifford M. N., Scalbert, A. (2000). Ellagitannins – Nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7): 1118–1125.
24. Cuypers A., Vangronsveld J., Clisjters H. (2001). The redox status of plant cells (AsA and GSH) is sensitive to zinc imposed oxidative stress in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39: 657-664.
25. Dai R., Ge H., Howard S., Qiu W. (2012). Transcriptional expression of Stilbene synthase genes are regulated developmentally and differentially in response to powdery mildew in Norton and Cabernet Sauvignon grapevine. *Plant Science*, 197: 77-76.
26. Dixi C. X., Gamdagin R. (1978). Effect of foliar application of zinc and iron chlorosis and yield of Kinnow. *HortScience*, 10(1): 13- 19.
27. Domingo A. L., Nagatomo Y., Tamai M., Takaki H. (1992). Free-tryptophan and indoleacetic acid in zinc-deficient radish shoots. *Soil Science and Plant Nutrition*, 38(2): 261-267.
28. Ender M., Lib Q., Martin B., Povh R., Nobiling H., Reiss K. (1983). Demonstration of polar zinc distribution in pollen tubes of *Lilium longiflorum* with Heidelberg proton microprobe. *Protoplasma*. 116(2-3): 201-203.
29. Esmel C. E., Duval J. R., Santos B. M., Sargent S. A., Simonne E. H. (2008). Is Strawberry Fruit Firmness Associated with Tissue Ca Concentration? *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 121: 281-284.
30. Gezgin F. E. R. S., Bayrakli F. (2009). The effect of different zinc application methods and levels on yield and quality of Hesapali (*Vitis vinifera* L.) grape. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15(5): 410-416.
31. Gille G., Sigler K. (1995). Oxidative stress and living cells. *Folia Microbiologica*, 40(2): 131-152.
32. Grüngreiff K., Reinhold D., Wedemayer H. (2016). The role of zinc in liver cirrhosis. *Annals of Hepatology*, 15(1): 7-16.

33. Gupta M., Cuypers A., Vangronsveld J., Clijsters H. (1999). Copper affects the enzymes of the ascorbate glutathione cycle and its related metabolites in the roots of *Phaseolus vulgaris*. *Physiologia Plantarum*, 106: 262-267.
34. Hansawasdi C., Rithiudom S., Chaiprasart P. (2006). Quality and antioxidant activity changes during low-temperature storage of strawberry fruits. *Acta horticulturae*, 708: 301-306.
35. Harker F.R., Sutherland P.W. (1993). Physiological changes associated with fruit ripening and the development of mealy texture during storage of nectarines. *Postharvest Biology and Technology*, 2: 269-277.
36. Heldt H. W., Piechulla B. (2011a). *Plant Biochemistry*. Academic Press, 32 Jamestown Road, London, UK. ISBN: 978-0-12-384986-1. Poglavlje 13.3. str. 347.
37. Heldt H. W., Piechulla B. (2011b). *Plant Biochemistry*. Academic Press, 32 Jamestown Road, London, UK. ISBN: 978-0-12-384986-1. Poglavlje 8.3. str. 219.
38. Heldt H. W., Piechulla B. (2011b). *Plant Biochemistry*. Academic Press, 32 Jamestown Road, London, UK. ISBN: 978-0-12-384986-1. Poglavlje 20.2. str.494.
39. Hu D. Y., Pang W., He C. C., Lu H., Liu W., Wang Y. Z., Liu Q. L., Huang Y. C., Jiang Y. G. (2016). The cognitive impairment induced by zinc deficiency in rats aged 0~2 months related to BDNF DNA methylation changes in the hippocampus. *Nutritional Neuroscience*, 20(9): 519-525.
40. Ismail A. M., Azooz M. M. (2005). Effect of Zinc supply on growth and some metabolic characteristics of safflower and sunflower plants. *Indian Journal of Plant Physiology*, 10(3): 260-266.
41. Jiu S. T., Wang C., Zheng T., Liu Z., Leng X. P., Pervaiz T., Lotfi A., Fang J. G., Wang X. M. (2016). Characterization of VvPal-like promoter from grapevine using transgenic tobacco plants. *Functional & Integrative Genomics*, 16(6): 595-618.
42. Kaur G., Srikrishna S. (2016). Classification of the treble clef zinc finger: noteworthy lessons for structure and function evolution. *Science Report*, 6: 1-9.
43. Kazemi M. (2013). Effects of Zn, Fe and their combination treatments on the growth and yield of tomato. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 3(1): 109-114.
44. Kazemi M. (2014). Influence of foliar application of iron, calcium and zinc sulfate on vegetative growth and reproductive characteristics of strawberry cv. 'Pajaro'. *Trakia Journal of Sciences*, 1: 22-26.
45. Kazemi M. (2015). Effect of Iron (Fe-EDDHA), Calcium Chloride and Zinc Sulphate on Vegetative Growth, Yield and Fruit Quality of Strawberry (*Fragaria x Ananassa* Duch. Cv. Pajaro). *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 11(3): 669-676.
46. Klug A. (2010). The discovery of zinc fingers and their applications in gene regulation and genome manipulation. *Annual reviews biochemistry*, 79: 213-231
47. Kochian L. (1991). Mechanisms of nutrient uptake and translocation in plants. *Micronutrients in Agriculture*, 2(4): 265-266.
48. Kumar U. J., Bahadur V., Prasad V. M., Mishra S., Shukla P. K. (2017). Effect of Different Concentrations of Iron Oxide and Zinc Oxide Nanoparticles on Growth and Yield of

- Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) cv. 'Chandler'. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6(8): 2440-2445.
49. Kupper H., Kupper F., Spiller M. (1998). In situ detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants. Photosynthesis Research, 58(2): 123-133.
 50. Lieten F. (2003). Zinc Nutrition of Strawberries Grown on Peat Bags. Small Fruits Review, 2(4): 63-72.
 51. Lobo J. C., Torres J. P. M., Fouque D., Mafra D. (2010). Zinc deficiency in Chronic Kidney Disease: Is there a Relationship with Adipose Tissue and Atherosclerosis? Biological Trace Elements Research, 135:16-21.
 52. Lourdes R., Dionisio-Sese M. L. (2014). Impact of light variation on the antioxidant properties of red lettuce. Electronic Journal of Biology, 10(2): 28-34.
 53. MacDonald R. S. (2000). The Role of Zinc in Growth and Cell Proliferation. Journal of Nutrition, 130: 1500S-1508S.
 54. Majdoub N., el-Guendoz S., Rezgui M., Carlier J., Costa C., Bettaieb Ben Kaab L., Miguel M. G. (2017). Growth, photosynthetic pigments, phenolic content and biological activities of *Foeniculum vulgare* Mill., *Anethum graveolens* L. and *Pimpinella anisum* L. (Apiaceae) in response to zinc. Industrial Crops & Products, 109: 627-636.
 55. Majeau N., Coleman J. R. (1994). Correlation of Carbonic Anhydrase and Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase Expression in Pea. Plant Physiology, 104: 1393-1399.
 56. Malik N. J., Chamon A. S., Mondol M. N., Elahi S. F., Faiz S. M. A. (2011). Effect of different levels of zinc on growth and yield of red amaranth (*Amaranthus* sp.) and rice (*Oryza sativa*, variety-BR49). Journal of Bangladesh Association of Young Researchers, 1(1): 79-91.
 57. Manivasagaperumal R., Vijayarangan P., Balamurugan S., Thiagarajan G. (2012). Effect of zinc on growth, dry matter yield and nutrient content of *Vigna radiata* (L.) Wilczek. International Journal of Recent Scientific Research, 3(8): 687-692.
 58. Marschner H. (2012a). Mineral nutrition of higher plants – Third edition. Academic Press Elsevier, 32 Jamestown Road, London, UK. ISBN: 978-0-12-384905-2. Poglavlje 7.4.1. str. 212.
 59. Marschner H. (2012b). Mineral nutrition of higher plants – Third edition. Academic Press Elsevier, 32 Jamestown Road, London, UK. ISBN: 978-0-12-384905-2. Poglavlje 7.4. str. 218.
 60. Marschner H. 2012b. Mineral nutrition of higher plants – Third edition. Academic Press Elsevier, 32 Jamestown Road, London, UK. ISBN: 978-0-12-384905-2. Poglavlje 7.4.7. str. 221.
 61. Marschner H. (2012c). Mineral nutrition of higher plants – Third edition. Academic Press Elsevier, 32 Jamestown Road, London, UK. ISBN: 978-0-12-384905-2. Poglavlje 7.4.4. str. 216.
 62. Marschner H. i Cakmak I. (1988). Enhanced superoxide radical production in roots of zinc-deficient plants. Journal of Experimental Botany, 39(10): 1449-1460.
 63. Mazzolini A. P., Pallaghay C. K., Legge G. J. F. (1985). Quantitative microanalysis of Mn, Zn and other elements in mature wheat seed. New Phytologist, 100: 483-509.

64. McCall K. A., Huang C. C., Fierke C. A. (2000). Function and Mechanism of Zinc Metalloenzymes. *Journal of Nutrition*, 130: 1437S-1446S.
65. Mdwaradze T. D. (1981). Effect of different rates of zinc fertilizers on qualitative indices of mandarin fruit. *Subtrophicheskie Kultury*, 5: 49-51.
66. Michael P. I., Krishnaswamy M. (2011). The effect of zinc stress combined with high irradiance stress on membrane damage and antioxidative response in bean seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 74: 171-177.
67. Moore P. A. Jr., Patrick W. H. Jr. (1988). Effect of zinc deficiency on alcohol dehydrogenase activity and nutrient uptake in rice. *Agronomy Journal*, 80: 882–885.
68. Muir S. R., Collins G. J., Robinson S., Hughes S., Bovy A., Ric De Vos C. H., van Tunen A. J., Verhoeven M. E. (2001). Overexpression of petunia chalcone isomerase in tomato results in fruit containing increased levels of flavonols. *Nature Biotechnology*, 19: 470-474.
69. Nile S. H., Park S. W. (2014). Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30: 134-144.
70. Ough, C. S., Amerine, M. A. (1988). *Methods for Analysis of Musts and Wines*. John Wiley and Sons, New York, USA.
71. Ozturk L., Yazici M. A., Yucel C., Torun A., Cekic C., Bagci A., Ozkan H., Braun H., Sayers Z., Cakmak I. (2006). Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiologia Plantarum*, 128: 144-152.
72. Panigua C., Santiago-Domenech N., Kirby A. R., Gunning A. P., Morris V. J., Quesada M. A., Matas A. J., Mercado J. A. (2017). Structural changes in cell wall pectins during strawberry fruit development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118:55-63
73. Park S. W., Song K. J., Moon Y. K., Hwang J. H., Shin Y. U., Kim W. C., Chung W. (2002). Molecular cloning and characterization of four cDNAs encoding the isoforms of NAD-dependent sorbitol dehydrogenase from the Fuji apple. *Plant Science*, 162: 513-519.
74. Prasad K. V. S. K., Paradha Saradhi P., Sharmila P. (1999). Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*. *Environmental and Experimental Botany*, 42: 1-10.
75. Prasad S. A. (2013). *American Society for Nutrition, Advances in Nutrition*. 4: 176–190.
76. Prask J. A., Plocke D. J. (1971). A Role for Zinc in the Structural Integrity of the Cytoplasmic Ribosomes of *Euglena gracilis*. *Plant Physiology*, 48: 150-155.
77. Prior L. R., Cao G. (1999). Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *HortScience*, 35(4): 588-592.
78. Qiao X., He Y., Wang Z., Li X., Zhang K., Zeng H. (2014). Effect of foliar spray of zinc on chloroplast β -carbonic anhydrase expression and enzyme activity in rice (*Oryza sativa* L.) leaves. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36: 263-272.
79. Raffei S., Pakkish Z. (2014). Improvement of Vegetative and Reproductive Growth of 'Camarosa' Strawberry: Role of Humic Acid, Zn, and B. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 79(4): 239-244.
80. Rehman H., Aziz T., Farooq M., Wakeel A., Rengel Z. (2012). Zinc nutrition in rice production systems: a review. *Plant and Soil*, 361(1-2): 203-226.

81. Riazunnisa K., Padmavathi L., Bauwe H., Raghavendra A. S. (2006). Markedly low requirement of added CO₂ for photosynthesis by mesophyll protoplasts of pea (*Pisum sativum*): possible roles of photorespiratory CO₂ and carbonic anhydrase. *Physiologia Plantarum*, 128: 763-772.
82. Rohaani N., Hurrell, Kelishadi R., Schulin R. (2013). Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences*, 8: 144-157.
83. Ruffner H.P. (1982). Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis*: A review-Part B. *Scientia Vitae Et Vini*, 21: 346-358.
84. Sagardoy R., Vazquez S., Florenz-Sarasa I. D., Albacete A., Ribas-Carbo M., Flexas J., Abadia J. (2010). Stomatal and mesophyll conductances to CO₂ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc. *New Phytologist*, 187: 145-158.
85. Sajid M., Rab A., Ali N., Arif M., Ferguson L., Ahmed M. (2010). Effect of foliar application of Zn and B on fruit production and physiological disorders in sweet orange cv. Blood orange. *Sarhad Journal of Agriculture*, 26(3) 355-360.
86. Sandmann, G., Böger, P. (1983). The enzymatological function of heavy metals and their role in electron transfer processes of plants. *Encyclopedia of Plant Physiology*, 15A: 563–593.
87. Sasaki H., Hirose T., Watanabe Y., Ohsugi R. (1998). Carbonic Anhydrase Activity and CO₂ Transfer Resistance in Zn-Deficient Rice Leaves. *Plant Physiology*, 118: 929-934.
88. Segal D. J., Dreier B., Beerli R. R., Barbas C. F. (1999). Toward controlling gene expression at will: Selection and design of zinc fingers domains recognizing each of the 5'-GNN-3' DNA target sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96: 2758-2763.
89. Sekimoto H., Hoshi M., Nomura T., Yokota T. (1997). Zinc deficiency affects the levels of endogenous gibberellins in *Zea mays* L. *Plant Cell Physiology*. 38(9): 1087-1090.
90. Shrotri C. K., Mohanty P., Rathore V. C., Tewari M. N. (1983). Zinc deficiency limits the photosynthetic enzyme activation in *Zea mays* L. *Plant Physiology and Biochemistry*. 178: 213–217.
91. Siedlecka A., Gardestrom P., Samuelsson G., Kleczkowski L. A., Krupa Z. (1999). A Relationship between Carbonic Anhydrase and Rubisco in Response to Moderate Cadmium Stress during Light Activation of Photosynthesis. *Zeitschrift für Naturforschung*, 54c:759-763.
92. Solfanelli C., Poggi A., Loreti E., Alpi A., Perata P. (2006). Sucrose-specific induction of the Anthocyanin Biosynthetic pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 140: 637-640.
93. Song C. Z., Liu M. Y., Meng J. F., Chi M., Xi Z. M., Zhang Z. W. (2015). Promoting Effect of Foliage Sprayed Zinc Sulfate on Accumulation of Sugar and Phenolics in Berries of *Vitis vinifera* cv. Merlot Growing on Zinc Deficient Soil. *Molecules*, 20: 2536-2554.
94. Soubeyrand E., Basteau C., Hilbert G., van Leeuwen C., Delrot S., Gomes E. (2014). Nitrogen supply affects anthocyanin biosynthetic and regulatory genes in grapevine cv. Cabernet-Sauvignon berries. *Phytochemistry*, 103: 38-49.
95. Springob K., Nakajima J. I., Yamazaki M., Saito K. (2003). Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanins. *Natural Product Reports*, 20: 288-303.

96. Szwergold B. S., Ugurbil K., Brown T. R. (1995). Properties of Fructose-1,6-bisphosphate Aldolase from *Escherichia coli*: An NMR Analysis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 317(1): 244-252.
97. Šic-Žlabur J., Voća S., Dobričević N., Jakobek L., Šeruga M., Galić A., Plietić S. (2014). Variation in the bioactive compound content at three ripening stages of strawberry fruit. *Molecules*, 19: 10370-10385.
98. Takatsuji H. (1997). Zinc finger transcription factors in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 54: 582-596.
99. Tavallali V., Rahmati S., Bahmanzadegan A. (2017). Antioxidant activity, polyphenolic contents and essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. as affected by zinc fertilizer. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97: 4883-4889.
100. Vaillant N., Monnet F., Hitmi A., Sallanon H., Coudret A. (2005). Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress. *Chemosphere*, 59: 1005-1013.
101. Vallee B. L. i Falchuk K. H. 1993. The Biochemical Basis of Zinc Physiology. *Physiological Reviews*, 73(1): 82.
102. Voća S., Dragović Uzelac V., Družić J., Dobričević N., Šindrak Z., Duralija B., Plietić S. (2010). Changes in antioxidative components in fruit of five strawberry cultivars during three harvest times. *Italian Journal of Food Science* No. 4, vol. 22.
103. Voća S., Dobričević N., Dragović-Uzelac V., Duralija B., Družić J., Čmelik Z., Skendrović-Babojelić M. (2008). Fruit quality of new early ripening strawberry cultivars in Croatia. *Food Technology and Biotechnology*, 46(3): 292-298.
104. Vukadinović V., Vukadinović V. (2011). *Ishrana bilja*. Zebra Tisak, Ivana Gundulića 42, Vinkovci, Hrvatska. ISBN: 978-953-6331-24-1. Poglavlje 7.4. str. 224.
105. Wang S. Y., Lin H. S. (2000). Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 140-146.
106. Weckx J. E. J., Clijsters, H. M. M. (1997). Zn phytotoxicity induces oxidative stress in primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 35: 405-410.
107. Wind J., Smeekens S., Hanson J. (2010). Sucrose: Metabolite and signaling molecule. *Phytochemistry*, 71: 1610-1614.
108. Yadav D. S., Antil R. S., Kumar V., Singh M. (1985). Effect of Phosphate and Zinc application on dry matter yield and uptake of nutrients in Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Pflanzenernaehr Bodenk Zeitung*, 148: 233-240.
109. Zhang Y., Fu C., Yan Y., Wang Y., Li M., Chen M., Qian J., Yang X. (2013). Zinc Sulfate and Sugar Alcohol Zinc Sprays at Critical Stages to Improve Apple Fruit Quality. *Hort Technology*, 23(4): 490-497.
110. Zhang Y., Yan Y., Fu C., Li M., Wang Y. (2016). Zinc sulfate spray increases activity of carbohydrate metabolic enzymes and regulates endogenous hormone levels in apple fruit. *Scientia Horticulturae*, 211: 363-368.

111. Zhu H., Li X., Zhai W., Liu Y., Gao Q., Liu J., Ren L., Chen H., Zhu Y. (2016). Effects of low light on photosynthetic properties, antioxidant enzyme activity, and anthocyanin accumulation in purple pak-choi (*Brassica campestris* ssp. *Chinensis* Makino). PLoS ONE, 12, 6: 1-17.

Životopis

Datum i mjesto rođenja: Marin Cukrov rođen je 12.11.1992. u Šibeniku.

Formalno obrazovanje: Srednjoškolsko obrazovanje stječe u Splitu u V. Gimnaziji „Vladimir Nazor“ u razdoblju od 2007. do 2011. Status sveučilišnog prvostupnika ostvaruje na preddiplomskom međusveučilišnom studiju Mediteranske poljoprivrede 2015. godine. Diplomski studij usmjerenja: „Hortikultura-povrčarstvo“ pohađa na Agronomskom fakultetu u Zagrebu uz poseban interes prema genetici i ishrani bilja te hidroponskoj tehnologiji uzgoja.

Osobne vještine:

Jezik	Razumijevanje		Govor		Pisanje
	Slušanje	Čitanje	Govorna interakcija	Govorna produkcija	
Engleski	C1	C1	C1	C1	C1
Ruski	B1	B1	B1	B1	B1

Digitalna kompetencija				
Obrada informacija	Komunikacija	Stvaranje sadržaja	Sigurnost	Rješavanje problema
Iskusni korisnik	Iskusni korisnik	Samostalni korisnik	Samostalni korisnik	Samostalni korisnik

Korisnik vozačke dozvole (B kategorija) i voditelj broda (B kategorija).