



Hrvatsko biološko društvo
Societas biologorum croatica

BioZnalac

časopis ućenićkih istraživanja iz biologije

Broj 1

2015.



Pokrovitelj:
Biološki odsjek
Prirodoslovno matematički fakultet
Sveučilište u Zagrebu

ISSN 1849-837X

BIOZNALAC



časopis učeničkih istraživanja iz biologije

Izdavač

Hrvatsko biološko društvo

Rooseveltova trg 6 , 10000 Zagreb

URL: <http://www.hbd-sbc.hr/>

E-mail: info@hbd-sbc.hr

SOCIETAS BIOLOGORUM CROATICA



Hrvatsko biološko društvo

ISSN 1849-837X

Uredništvo časopisa Bioznalac

Glavni urednik

Ines Radanović, ines.radanovic@biol.pmf.hr

Operativni urednici

Žaklin Lukša, zaklinluksa@gmail.com

Mirela Sertić Perić, mirela.sertic.peric@biol.pmf.hr

Marina Ništ Marina.Nist@azoo.hr

Recenzenti

Kletečki E., Klobučar G., Korać P., Kovačević G., Krznarić Barić J., Kuhar V., Labak I., Lajtner J., Murk B., Pavlica M., Pavoković D., Ruščić M., Sedlar Z., Sumpor D., Škara R., Žiža J.

Web urednik

Renata Horvat, renata.horvat@biol.pmf.hr

Bioznalac je elektronički časopis na web stranici HBD-a
i izlazi najmanje jednom godišnje

SADRŽAJ

Rad	Autori	Naslov rada	Razred	Mentor	Naziv škole	Stranice
1	Karla Kijac Petra Udovičić	PRIMJENA MIKORIZE U UZGOJU BILJAKA	7	Jasna Tonšetić	Osnovna škola Augusta Šenoe, Zagreb	1 - 14
2	Matko Jukić	UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA RAZVOJ BAKTERIJA	7	Ivana Posavac	Osnovna škola "Retfala", Osijek	15 - 27
3	Sara Bedeniković	BOJA OČIJU NAŠIH UČENIKA	8	Karmen Zgrebec	I. osnovna škola, Varaždin	28 - 36
4	Marta Jedrejčić Veronika Lanča	BUDI SVOJ – POŠTUJ DRUGE	8	Maja Curić	OŠ Vladimira Nazora, Pazin	37 - 51
5	Dora Šokota Lucija Orlović	KAKO MASTI U VRHNJU I SIRU UTJEČU NA RAZVOJ PLIJESNI I BAKTERIJA	8	Mirica Brekalo	OŠ Petra Preradovića	52 - 64
6	Nensi Milohanić Nina Jelenković	USPOREDBA ANTROPOMETRIJSKIH KARAKTERISTIKA I MOTORIČKIH SPOSOBNOSTI UČENIKA 8. RAZREDA I NJIHOVIH RODITELJA U 8. RAZREDU	8	Maja Curić	OŠ Vladimira Nazora, Pazin	65 - 81
7	Tea Petricioli Ema Čimbur	UTJECAJ BOJE FOLIJE NA RAST I RAZVOJ SALATE	8	Mirica Brekalo	OŠ Petra Preradovića	82 - 90
8	Lucia Marcan Ani Paulišić	UTJECAJ DUŠIKOVOG (I) OKSIDA NA RAST I RAZVOJ VINSKE MUŠICE	8	Maja Curić	OŠ Vladimira Nazora, Pazin	91 - 103
9	Ivana Bosančić Iva Prosenekić	UTJECAJ ELEKTROMAGNETSKOG ZRAČENJA MOBITELA I RAČUNALA NA KLIJAVOST I RAST PŠENICE <i>Triticum</i> sp.	8	Đurđica Patafta	Osnovna škola Kustošija	104 - 113
10	Elizabeta Gegić Kristina Husinec	UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA KONCENTRACIJU UČENIKA	8	Kristina Vujić Teskera	Osnovna škola Retkovec	114 - 123
11	Mihaela Mandić Žana Franjević	UTJECAJ MIKROVALOVA NA RAST I RAZVOJ BILJAKA	8	Ivana Skočić	OŠ "Stjepan Radić", Božjakovina	124 - 132
12	Marta Paladin	UTJECAJ RAZLIČITIH NAČINA SKLADIŠTENJA, ODMRZAVANJA I PRIPREME MESA NA BROJNOST BAKTERIJA	8	Katica Nožar	Osnovna škola Stenjevec	133 - 147
13	Magdalena Biškup Lucija Škiljan	Zastupljenost golosjemenjača u parkovima grada Samobora	8	Nataša Kletečki	OŠ Bogumila Tonija, Samobor	148 - 156
14	Sanja Gregorinčić Bernarda Flinčec	ZAŠTITA VODOZEMACA OD STRADAVANJA NA PROMETNICAMA	8	Sara Janković	Osnovna škola Gornji Mihaljevec	157 - 170
15	Karla Hrala	KOJU VODU PITI- VODOVODNU, FLAŠIRANU, FILTRIRANU ILI "OŽIVLJENU"?	1	Bojana Davda Sirovina	II. gimnazija, Zagreb	171 - 180
16	Lenka Ivčević Marija Vitaljić	LIŠAJEVI OTOKA VISA	1	Josipa Poduje	SŠ Antun Matijašević Karamaneo, Vis	181 - 196
17	Lucija Malinar Ena Stefanov	UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA KRATKOROČNO PAMĆENJE	1	Željko Krstanac	Prirodoslovna škola Vladimira Preloga	197 - 203
18	Ana Vurušić Lidia Vinković	Utjecaj sirovina i temperature fermentacije na kiselo tijesto za kruh	1	Željka Kadi	Ekonomska i trgovačka škola Čakovec	204 - 215
19	Lora Pevec	UTJECAJ TEMPERATURE NA BRZINU RASTA KUĆNOG ŠTURKA (<i>Acheta domestica</i>)	1	Romana Halapir Franković	V. gimnazija, Zagreb	216 - 227
20	Lara Heim Sara Gerić	UTJEČE LI MLIJEKO RAZLIČITIH PROIZVOĐAČA NA KVALITETU KEFIRA?	1	Bojana Davda Sirovina	II. gimnazija, Zagreb	228 - 236
21	Ana Marčec Filip Tomšić	BOTANIČKO PODRIJETLO MEĐA GORNJEG MEĐIMURJA	2	Monika Cindrić	Srednja škola Čakovec	237 - 244
22	Alojzije Košić Sara Sedmak	MEĐUOVISNOST NAČINA SKLADIŠTENJA, KLIJAVOSTI I PRISUTNOSTI MIKOTOKSINA ZEARALENONA U KUKURUZU (<i>Zea mays</i> L.)	2	Tanja Šalamon	Gimnazija Josipa Slavenskog, Čakovec	245 - 258
23	Edvard Bedoić	UČINAK MIKROVALNOG ZRAČENJA NA PREŽIVLJAVANJE PROBIOTIKA U MLIJEČNIM PROIZVODIMA	2	Ljubica Kostanić	III. gimnazija, Zagreb	259 - 268
24	Melita Kovačić Laura Mayer	UTJECAJ VRSTE PODLOGE NA BRZINU RASTA BUKOVAČA (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	2	Branka Horvat	Gimnazija Tituša Brezovačkog	269 - 281
25	Dunja Kureljak Marta Radin	HERBICIDNO DJELOVANJE PAJASENA (<i>Ailanthus altissima</i> MILL.) NA KLIJAVOST BILJAKA	3	Marija Žužić	Srednja škola Mate Balote, Poreč	282 - 292
26	Matea Pavičić Nikola Novosel	MORFOLOGIJA LIŠĆA I RAST IZBOJAKA MUŠKIH I ŽENSKIH BILJAKA BIJELE IMELE S RAZLIČITIH DOMAĆINA U PARKU MAKSIMIR	3	Karmela Brčić Đapić	Nadbiskupska klasična gimnazija s pravom javnosti	293 - 306

Rad	Autori	Naslov rada	Razred	Mentor	Naziv škole	Stranice
27	Marija Grebenar Marita Mesić	ODREĐIVANJE VRSTA EPIFITSKIH LIŠAJEVA U ZAGREBU KAO INDIKATORA ČISTOĆE ZRAKA	3	Vesna Burušić	V. gimnazija, Zagreb	307 - 318
28	Dominik Herek Mihovil Mandić	RAST I KLIJANJE BILJAKA POD UTJECAJEM ASPIRINA I SALICILNE KISELINE	3	Romana Halapir Franković	V. gimnazija, Zagreb	319 - 331
29	Paula Štancl	Od blata do mikro svjetla	4	Mihaela Marceljak Ilić	XV.gimnazija, Zagreb	332 - 343
30	Lujo Matasović Mavro Matasović	UTJECAJ FEROMONA NA KRETANJE MADAGASKARSKOG SIKTAJUĆEG ŽOHARA (<i>Gromphadorhina portentosa</i>)	4	Iva Prgomet	Klasična gimnazija, Zagreb	344 - 356
31	Iva Šumonja	UTJECAJI ONEČIŠĆENJA METALIMA NA VARIJETE VRSTE <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	4	Goran Gotlibović	Prirodoslovna i grafička škola Rijeka	357 - 370

PRIMJENA MIKORIZE U UZGOJU BILJAKA

Karla Kijac, 7.razred

Petra Udovičić, 7.razred

Osnovna škola Augusta Šenoe, Zagreb

Mentor: Jasna Tonšetić

SAŽETAK

Cilj našeg istraživanja je ispitati može li primjena mikorize poboljšati kvalitetu i rast biljaka bez dodatka umjetnih gnojiva i kemijskih sredstava. Naše su pretpostavke da mikoriza može pospješiti klijanje. Pretpostavljamo da će korijenje biljnih kultura uzgajanih u zajednici s mikoriznim gljivama biti dulje i razgranatije pa će izdanak brže rasti i biti kvalitetniji, a biljke imati intenzivniji miris. Pretpostavile smo i da biljke uzgajane u zajednici s mikoriznim gljivama treba manje zalijevati, odnosno da duže zadržavaju vodu pa lakše preživljavaju nepovoljno sušno razdoblje.

Istraživanje smo provele u prostorijama škole tijekom školske godine 2014/2015. U pokusima smo koristile sedam biljnih kultura: pšenicu, grašak, grah, zumbul i šafran, luk i bosiljak. Sijale smo sjemenke pšenice, graška i graha, sadile sadnice bosiljka te lukovice zumbula i šafrana u posude s manjom i većom količinom dodanog micelija mikorizne gljive (preparat Mycoflor) te u kontrolne posude (bez dodatka Mycoflora). Pratile smo klijavost sjemenki, brojile korjenčiće i mjerile njihovu duljinu te brojile izdanke i mjerile njihovu visinu uspoređujući vrijednosti. Ispitale smo i intenzitet mirisa bosiljka i zumbula usporedivši tretirane primjerke i kontrolne biljke. Na temelju svojih istraživanja možemo zaključiti: zumbul i bosiljak uz dodatak veće količine mikorizne gljive imaju intenzivniji miris u skladu s našom pretpostavkom. Biljke tretirane Mycoflorom troše manje vode, tj. duže zadržavaju vlažnost pa lakše preživljavaju sušno razdoblje. Mikoriza pospješuje klijanje i štiti usjev od plijesni. Duljina i razgranatost korijenja lukovica je veća kod primjeraka uzgajanih u prisutnosti mikoriznih gljiva u odnosu na kontrolne lukovice. Istraživanja treba nastaviti u laboratoriju, ali i na otvorenim površinama.

Ključne riječi: *korijenove dlačice, klijanje, izdanak*

UVOD

Mikoriza

Mikoriza je simbioza korijena biljaka i gljiva. Naziv mikoriza dolazi od grčkih riječi *mykes* (gljiva) i *rhiza* (korijen) te u doslovnom prijevodu znači „gljivino korijenje“. Mikorizu je uočio i prvi znanstveno opisao poljski botaničar Franciszek Kamiński 1880. godine. Od tada znanstvenici proučavaju ovaj prirodni fenomen.

Korijenje mnogih biljaka živi u simbiozi s gljivama. Smatra se da čak 80% biljaka živi s mikorizom (Dolenec i Rusak 2011). Hife su puno tanje i brojnije od korijenovih dlačica te mogu prodrijeti u najsitnije pore tla (Novak 1998). Na taj način povećavaju površinu kojom biljka upija vodu i mineralne tvari iz tla (ponajviše fosfate i nitrata). Stoga je suživot s gljivama posebno koristan biljkama koje rastu na tlima siromašnim mineralnim tvarima. Gljiva ima korist od biljke, jer od nje dobiva organske tvari (ugljikohidrate), koje biljka proizvede procesom fotosinteze. Mikoriza se može definirati i kao simbioza između biljaka i gljiva, lokalizirana u korijenju, tijekom koje asimilati (organski spojevi) idu iz biljke u gljivu, a anorganske tvari iz gljive u biljku (Novak 1998). Dva su tipa mikorize: ektomikoriza i endomikoriza. Tijekom ektomikorize micelij gljiva obavija bočno korijenje biljaka te na taj način funkcionalno zamjenjuje korijenove dlačice. U procesu endomikorize ne oblikuje se gusti omotač hifa oko korijena, već se hife šire unutar stanica korijena, ne oštećuju ih, prodiru u tlo i zamjenjuju korijenove dlačice.



Mikoriza je poznata u hrasta, breze, bora i brojnih drugih biljaka. Primjerice, od posebnog je značenja za porodicu orhideja jer razvoj orhideje iz sjemenke ovisi o simbiotskim gljivama. Sjemenka orhideje ne može proklijati bez pomoći simbiotskih gljiva koje žive u tlu.

Mikorizne gljive proizvode i antibiotike koji mogu štiti korijenov sustav od patogenih gljiva i mikroorganizama u tlu. One također luče čimbenike rasta koji potiču razvoj i grananje korijenja biljaka. Imaju i veliku ulogu u očuvanju strukture plodnog tla jer se sitne čestice tla spajaju jedna s drugom stvarajući tzv. agregate plodnog tla. Mikoriza može uskladištiti velike količine vode pa je učinkovita tijekom sušnog razdoblja. Biljke su mikorizom zaštićene i od teških metala te soli.

Primjena mikorize u uzgoju bilja

U uzgoju bilja danas se često koriste razna kemijska sredstva radi zaštite usjeva i/ili povećanja prinosa. Uporaba kemijskih sredstava za zaštitu bilja dovodi do velikog onečišćenja prirode pa svakim danom raste svijest o potrebi biološko-organskog uzgoja bilja. Opći su ciljevi biološko-organske proizvodnje: uspostavljanje održivog sustava u poljoprivredi te ostvarivanje visoke kvalitete u proizvodnji širokog spektra hrane i drugih poljoprivrednih proizvoda primjenom postupaka koji ne štete okolišu.

Mikoriza, uzajamna ovisnost fotoautotrofih biljaka i gljiva, predstavlja jednu od najvažnijih, ali još nedovoljno razjašnjenih bioloških zajednica, koja regulira, a time i omogućuje pravilno funkcioniranje ekosustava (Novak 1971). Do danas su otkrivene brojne prednosti mikorize, međutim sterilizacija tla i sadnica, monokulture, prekomjerno korištenje umjetnih gnojiva i kemijskih sredstava za zaštitu bilja godinama su uništavali prirodnu mikorizu. Biljke uzgajane mikorizom imaju zdraviji i gušći korijenski sustav, a smanjena je i potreba za zalijevanjem tih biljaka, tj. povećana je otpornost na sušu (Šolić 2011). Uz mikorizu, ukrasno bilje bolje raste i daje više cvjetova intenzivnijih boja; začinsko bilje i ukrasno cvijeće postiže intenzivniji miris; povrtne i voćne kulture daju više kvalitetnijih plodova. Stoga bi se mikoriza mogla primijeniti u svim granama gospodarstva koje se bave uzgojem biljaka. Primjerice, u povrtlarstvu (mahunarke i luk), voćarstvu (jabuke i grožđe), prehrambenoj industriji (pšenica, šećerna repa i kukuruz), cvjećarstvu (zumbul i šafran), tekstilnoj industriji (pamuk i lan), industriji biogoriva (uljana repica) itd.

Mikoriza je, kao savršeni oblik suživota biljke i gljiva, najjeftiniji način povećanja proizvodnje biljaka u skladu s prirodom. Nažalost, mikoriza još uvijek nema široku primjenu u uzgoju bilja.

Obrazloženje teme

Oduvijek nas je zanimala biologija, a posebno način na koji priroda savršeno funkcionira bez uplitanja čovjeka. Čovjek mnogim svojim postupcima remeti prirodnu ravnotežu i šteti okolišu. U želji da poveća proizvodnju hrane, čovjek unosi kemijske tvari u prirodu čime onečišćuje okoliš i osiromašuje tlo. Kako pomoći prirodi? Mi mislimo da je jedan od načina primjena mikorize u uzgoju biljaka.

Mikoriza nam je bio nepoznat pojam do obrade nastavne cjeline o gljivama u okviru gradiva biologije za sedmi razred osnovne škole. Odlučile smo istražiti ovu pojavu i tako saznale za brojne prednosti mikorize. Biljke uzgajane s mikoriznim gljivama imaju zdraviji i gušći korijenski sustav te smanjenu potrebu za zalijevanjem uzgojenih kultura, a potreba za gnojenjem manja je 30 - 50 %. Ukrasno bilje

uz mikorizu bolje raste i daje više kvalitetnijih cvjetova intenzivnijih boja, začinsko bilje i cvijeće postižu značajno intenzivniji miris, a povrtna i voćna kultura daju više kvalitetnijih i većih plodova (Novak 2012). Biljke su znatno otpornije na bolesti pa ih ne treba tretirati kemijskim sredstvima, a zaštićene su i od teških metala i soli.

Odlučile smo istražiti možemo li primjenom mikorize poboljšati kvalitetu i rast biljaka bez dodatka umjetnih gnojiva i kemijskih sredstava. Naša je pretpostavka da mikoriza može pospiješiti klijanje, da mikorizne gljive potiču rast i razgranatost korijenskog sustava. Pretpostavljamo da stabljike biljaka u zajednici s mikoriznim gljivama brže rastu, stabljike su više, biljka ima intenzivniji miris. Naša je pretpostavka također da biljke uzgajane primjenom mikorize treba manje zalijevati.

MATERIJAL I METODE RADA

Istraživanje je provedeno u prostorijama škole tijekom školske godine 2014/2015. U istraživanju je korišteno sedam biljnih kultura: pšenica, grašak, grah, zumbul i šafran te luk i bosiljak (slika 1).



Slika 1 Biljne kulture koje smo koristili u pokusu

Za mikorizu je korišten živi micelij i spore u stanju hibernacije mikoriznih gljiva (preparat Mycoflor). Za povrtna biljke je korišten tip Mycoflor preparata koji je namijenjen za povrće, a za bosiljak, zumbul i šafran je korišten tip za ukrasno bilje (slika 2).



Slika 2 Preparati micelija mikorizne gljive koje smo koristili u pokusu

Micelij mikorizne gljive dodavan je uvijek istom žlicom (slika 3). Jedan je dio žlice veće zapremine i označavale smo ga s M ili 1, a drugi dio manje zapremine označavale smo kao M1/2 ili samo 1/2.



Slika 3 Metalna žlica kojom smo dodavale Mycoflor

Sve smo uzgajane biljne kulture smjestile u isti prostor s jednakim životnim uvjetima (svjetlost, temperatura), a zalijevale smo ih prema potrebi. Pokusne uzorke smo povremeno fotografirale kamerom mobilnog telefona.



Slika 4 Uzgajane biljke uz prozor učionice na početku pokusa (lijevo) i nakon 3 tjedna (desno)

Razvoj lukovice luka

Pripremile smo dvije posude jednake veličine i svaku napunile vodom. Čaše smo prekrile komadićem gaze. Na gazu prve posude stavile smo mikoriznu gljivu velikom žlicom i označile je (L1), a drugu smo posudu ostavile kao kontrolu, tj. u nju nismo stavile micelij gljive. Na gazu svake posude položile smo jednu lukovicu crvenog luka. Svaki drugi dan provjeravale smo rast korijena lukovica, uspoređivale i mjerile porast te upisivale podatke. U posude s lukovicama dodavale smo vodu prema potrebi i svaki puta bilježile utrošenu količinu vode. Usporedile smo i razgranatost korijena kontrolne lukovice i lukovica koje su rasle u mikorizi s gljivama. Promatrale smo i rast izdanka te mjerile i uspoređivale visinu svakog uzorka.

Napravile smo mikroskopske preparate korjenčića lukovica i promotrile ih mikroskopom. Pokus smo ponovile još dva puta, ali s tri posude: uz kontrolnu (LK) i posudu s mikorizom (L1), u istraživanje smo uključile i treću posudu u koju smo stavile mikoriznu gljivu malom žlicom (L1/2).

Klijanje i rast pšenice

Pripremile smo tri posude za uzgoj cvijeća jednake veličine i svaku napunile zemljom za cvijeće iste kvalitete. Na posude smo stavile oznake: PK, P1/2, P1. U svaku smo posudu utisnule jednaku količinu sjemenki pšenice. Sjemenke nismo brojile, nego izvagale digitalnom vagom.

Prva je posuda (PK) bila kontrola, u treću smo posudu stavile mikoriznu gljivu (P1), a u drugu pola količine mikorizne gljive u odnosu na drugu posudu (P1/2). Pšenicu smo pomoću mjernih posuda (čaša, menzura) zalijevale po potrebi i zapisivale u tablicu utrošenu količinu vode. Svaka dva dana smo pregledavale klijavost sjemenki (brojenje), a kasnije mjerile rast stabljika metrom. Pokus smo



ponovile, ali smo sjemenke sijale u prozirne plastične posude s oznakama K, $\frac{1}{2}$ i 1. Na dnu plastičnih posuda napravile smo nekoliko otvora za odljev prekomjerne količine vode.

Klijanje i rast graška

Pripremile smo tri posude za uzgoj cvijeća jednake veličine i svaku napunile zemljom za cvijeće iste kvalitete. Na posude smo stavile oznake: GK, G1/2, G1. U svaku smo posudu utisnule isti broj sjemenki graška. Prva posuda (GK) bila je kontrola, u treću smo posudu stavile mikoriznu gljivu (G1), a u drugu pola količine mikorizne gljive u odnosu na treću posudu (G1/2). Zalijevajući sjemenke, pazile smo da svaki puta zapišemo količinu utrošene vode kako bismo na kraju pokusa mogle usporediti vrijednosti. Svaki drugi dan pregledavale smo klijavost sjemenki (brojenje), a kasnije mjerile rast stabljika metrom. Pokus smo ponovile još jednom.

U trećem pokusu sijale smo sjemenke u prozirne posude. Svaku smo posudu označile: K (kontrola), $\frac{1}{2}$ (posuda u koju smo stavile mikorizu iz male žlice) i 1 (posuda u koju smo stavile mikorizu iz velike žlice). Na taj smo način željele promatrati razgranatost korijena u pojedinim posudama i uspoređivati ga te vidjeti micelij gljive.

Klijanje i rast graha

Pripremile smo tri prozirne plastične posude kojima smo probušile nekoliko otvora na dnu i napunile ih zemljom za cvijeće. Na posude smo stavile oznake: K, M1/2, M1. U svaku smo posudu utisnule isti broj sjemenki graha (8). Prva posuda (K) bila je kontrola, u treću smo posudu stavile mikoriznu gljivu (1), a u drugu pola količine mikorizne gljive u odnosu na treću posudu (1/2). Zalijevajući sjemenke, pazile smo da svaki puta zapišemo količinu utrošene vode kako bismo na kraju pokusa istu mogle usporediti. Svaki drugi dan pregledavale smo klijavost sjemenki (brojanje), a nakon nekog vremena mjerile smo rast stabljika metrom.

Pokus smo ponovile još jednom, ali smo sijale sjemenke u prozirne staklene posude, a na dno smo, umjesto zemlje, stavile papirnate maramice i u njih utisnule sjemenke graha. Svaku smo posudu označile: K (kontrola), 1/2 (posuda u koju smo stavile mikoriznu gljivu iz male žlice) i 1 (posuda u koju smo stavile mikoriznu gljivu iz velike žlice). Posude smo poklopile i u prvo vrijeme nismo zalijevale. Na taj smo način namjeravale promatrati količinu vlage i razgranatost korijena u pojedinim posudama i uspoređivati ga. Očekivale smo se vidjeti micelij gljive.

Uzgoj zumbula i šafrana

Pripremile smo tri posude za uzgoj cvijeća jednake veličine i svaku napunile zemljom za cvijeće iste kvalitete. Na posude smo stavile oznake: KZŠ, 1/2ZŠ, 1ZŠ. U svaku smo posudu utisnule tri lukovice šafrana i jednu lukovicu zumbula. Prva posuda (KZŠ) bila je kontrola, u treću smo posudu dodale mikoriznu gljivu (1ZŠ), a u drugu pola količine mikorizne gljive u odnosu na treću posudu (1/2ZŠ). Svaki drugi dan pregledavale smo razvoj lukovica, zalijevale mjernim posudama, a kasnije metrom mjerile rast izdanka. Podatke smo bilježile. Usporedile smo i intenzitet mirisa zumbula kontrolne biljke i biljaka koje su rasle u mikorizi s gljivama. Prekrile smo oznake na posudama s uzgojenim biljkama i zamolile učenike dobrovoljce da odrede koja od biljaka, kontrolna ili tretirana mikoriznom gljivom, ima intenzivniji miris.

Uzgoj bosiljka

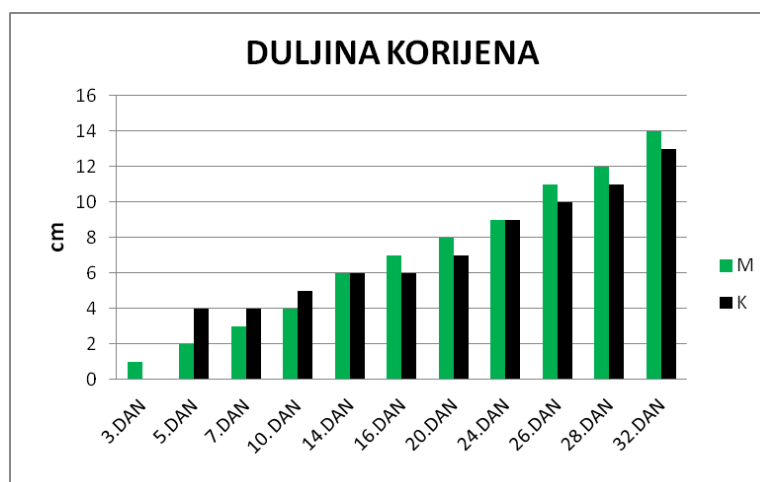
Pripremile smo tri posude za uzgoj cvijeća jednake veličine i svaku napunile zemljom za cvijeće iste kvalitete. Na posude smo stavile oznake: BK, B1/2, BM. U svaku smo posudu utisnule osam sadnica bosiljka. Prva posuda (BK) bila je kontrola, u drugu smo posudu stavile malu žlicu mikorizne gljive, a posudu označile (B1/2). U treću posudu u zemlju smo stavile jednu veliku žlicu micelija mikorizne gljive i posudu označile (B1). Pazile smo da sadnice zalijevamo vodom iz baždarenih posuda kako bismo mogle bilježiti utrošak vode. Svaki drugi dan pregledavale smo rast stabljika, a njihovu visinu mjerile metrom.

Usporedile smo i intenzitet mirisa kontrolne biljke i biljaka koje su rasle u mikorizi s gljivama. Prekrile smo oznake na posudama s uzgojenim biljkama i zamolile učenike dobrovoljce da odrede koja od biljaka, kontrolna ili tretirana mikoriznom gljivom, ima intenzivniji miris.

REZULTATI

Lukovica luka

Rezultate praćenja dužine i broja korjenčića lukovica tijekom pokusa, količine dolijevane vode, visinu izdanka i opažanja tijekom pokusa prikazale smo slikama 5, 6, 7, 8, 9.



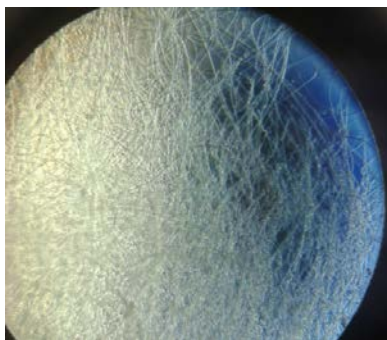
Slika 5 Duljina korijena lukovica u prvom pokusu



Slika 6 Pet dana od početka drugog pokusa broj i dužina korjenčića lukovice tretirane većom dozom Mycoflora (L1) puno je veća od korjenčića lukovice tretirane manjom dozom Mycoflora (L1/2) i one koja uopće nije tretirana (LK)



Slika 7 Između korjenčića lukovica koje su tretirane Mycoflorom uočile smo paučinastu prevlaku



Slika 8 Hife mikorizne gljive promatrane mikroskopom (povećanje 100x)



Slika 9 Na nekim mjestima hifa uočili smo posebne tvorevine (klamidospore) i oko njih mnogo spora (povećanje 600x)

Klijanje i rast pšenice

Rezultate praćenja klijanja i rasta izdanka pšenice, količine dolijevane vode i opažanja tijekom pokusa prikazale smo slikama 10 i 11.



Slika 10 Klijanje i rast pšenice u prvom (lijevo) i drugom pokusu (desno)



Slika 11 Izdanci uvenule pšenice tretirane većom dozom Mycoflora zadržale su više vlage

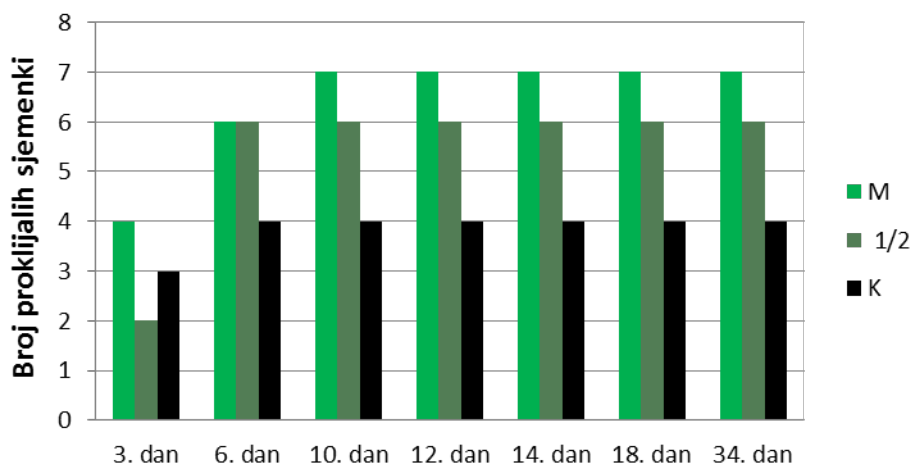
Klijanje i rast graška

Rezultate praćenja klijanja i rasta izdanka graška tijekom pokusa, količinu dolijevane vode i opažanja tijekom pokusa prikazale smo slikama 12, 13, 14, 15 i 16.



Slika 12 Rast stabljika graška u posudama za cvijeće pet dana od postavljanja trećeg pokusa. Najviše je sjemenki proklijalo u G1 posudi, manje u G1/2, a najmanje u kontrolnoj posudi

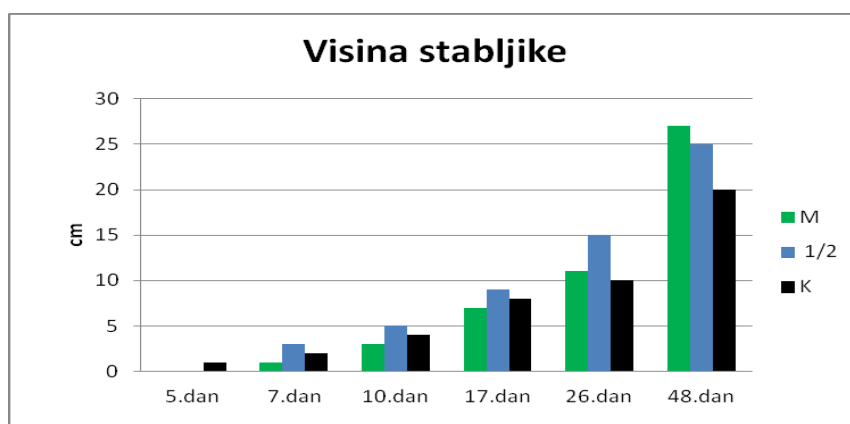
Klijanje sjemenki



Slika 13 Grafikon broja proklijalih sjemenki graška u drugom pokusu



Slika 14 Rast stabljika graška u plastičnim posudama deset dana od postavljanja drugog pokusa. U posudi tretiranoj polovičnom dozom Mycoflora (1/2) uočavamo najveću razgranatost korijena, a najmanju u kontrolnoj posudi (K)



Slika 15 Grafikon visine stabljika graška u prvom pokusu



Slika 16 Četiri tjedna od sijanja prvog pokusa grašak tretiran polovičnom dozom Mycoflora procvao je, a nakon pet tjedana razvio plod. Grašak u posudi G1 procvao je nakon pet tjedana, ali nije razvio plod. Kontrolna biljka ovog pokusa procvala je nakon pet tjedana

Klijanje i rast graha

Rezultate praćenja klijanja i rasta izdanka graha tijekom pokusa, količinu dolijevane vode i opažanja tijekom pokusa prikazale smo slikama 17, 18, 19 i 20.



Slika 17 Broj stabljika graha petnaest dana od sijanja veći je u posudi tretiranoj malom dozom mikorizne gljive nego u kontrolnoj posudi i u posudi koju smo tretirali velikom dozom Mycoflora (lijevo). Stabljike graha trideset dana od postavljanja pokusa u posudi s velikom dozom Mycoflora najviše su (desno).



Slika 18 Devet dana od postavljanja pokusa u kontrolnoj posudi graha uočile smo pojavu plijesni, dok u posudi tretiranoj Mycoflorom plijesni nije bilo



Slika 19 Klijanje sjemenki graha u staklenim posudama (K-kontrola, 1/2 - mala žlica Mycoflora, 1 - velika žlica Mycoflora). U posudi s oznakom 1 uočile smo najveću vlažnost



Slika 20 U posudi tretiranoj većom dozom Mycoflora (1) uočavamo veći broj prokljelih sjemenki nego u posudi tretiranoj manjom dozom Mycoflora (1/2), a najmanje je prokljelih sjemenki u kontrolnoj posudi (K)

Uzgoj zumbula i šafrana

Rezultate praćenja rasta izdanaka zumbula i šafrana, količine dolijevane vode i opažanja tijekom pokusa prikazale smo slikom 21.



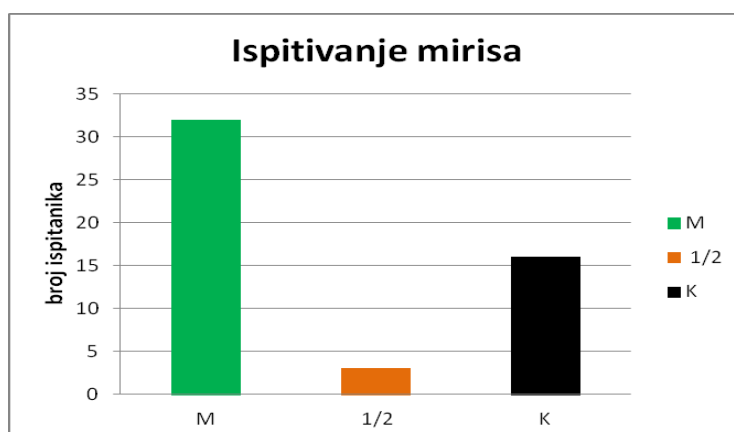
Slika 21 Zumbul u cvatu i rast izdanka šafrana tri tjedna nakon sadnje lukovica

Uzgoj bosiljka

Rezultate praćenja rasta izdanka bosiljka, količine dolijevane vode i opažanja tijekom pokusa prikazale smo slikama 22 i 23.

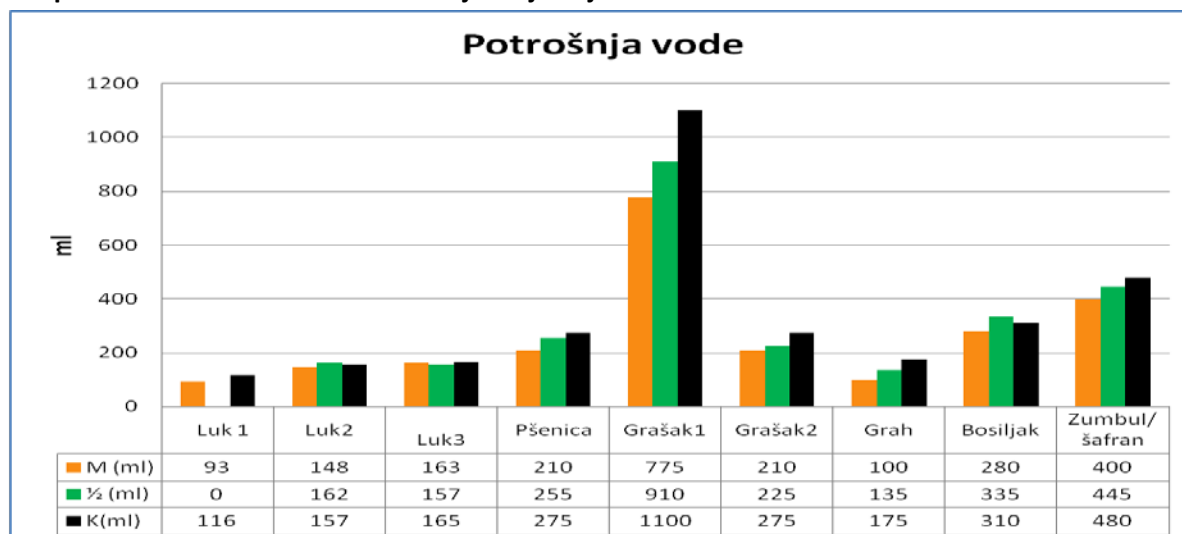


Slika 22 U posudi s bosiljkom uzgajanim s mikoriznim gljivama (1B) možemo uočiti više većih listova. Provele smo i istraživanje mirisa kojim smo dokazale da bosiljak u posudi 1 B (tretiran Mycoflorom) ima najintenzivniji miris (Slika 4.6.2. i tablica Bosiljak u prilogu)



Slika 23 Graf procjene 51 ispitanika intenziteta mirisa bosiljka

Ukupna količina vode utrošena za zalijevanje biljaka



Slika 24 Graf ukupne količine vode utrošene za zalijevanje biljaka

RASPRAVA

Tijekom prvog pokusa s lukovicom luka, uočile smo da lukovica u kontrolnoj posudi brže razvija korjenčiće te da ih je više nego u posudama tretiranim Mycoflorom (LM i L $\frac{1}{2}$). Ovi podatci suprotni su našim očekivanjima, a opisanu pojavu uočavale smo do četrnaestog dana pokusa. Od tada do kraja pokusa lukovica s većom dozom razvijala je više korjenčića od kontrolne skupine, što smo i očekivale. Ovakav rezultat objašnjavamo svojim propustom u metodi rada, jer nam je veći dio Mycoflora pao u vodu tikvice pa je trebalo više vremena da se mikoriza razvije.

Dužina korjenčića u posudi s većom dozom Mycoflora (LM) tijekom cijelog pokusa veća je od dužine korjenčića u posudi s polovičnom dozom Mycoflora (M $\frac{1}{2}$) i u kontrolnoj posudi (LK), što je u skladu s našim predviđanjem.

Od početka drugog pokusa broj je korjenčića veći u mikorizi veće koncentracije (LM), nešto je manji u mikorizi manje koncentracije (M $\frac{1}{2}$), a najmanji je na kontrolnoj lukovici (LK). Korjenčići su prvo počeli rasti na lukovicama tretiranim Mycoflorom (LM i L $\frac{1}{2}$), a tek kasnije na kontrolnoj lukovici (LK). Duljina je korjenčića tijekom čitavog pokusa veća na lukovicama tretiranim Mycoflorom, a manja na kontrolnoj lukovici. Izdanak je prvo počeo rasti i bio je viši na lukovici tretiranoj većom dozom Mycoflora (LM), nešto je kasnije počeo rasti i bio je niži na lukovici tretiranoj manjom dozom mikorize (M $\frac{1}{2}$), a nije ga bilo na kontrolnoj lukovici (LK). Svi su podatci u drugom pokusu u skladu s našim očekivanjima i istraživanjima koja su opisali Rubatzky i Yamaguchi (1996).

U trećem pokusu broj korjenčića na lukovicama tretiranim Mycoflorom veći je od broja korjenčića na kontrolnoj lukovici. Neočekivano je veći na lukovici tretiranoj manjom dozom Mycoflora (L $\frac{1}{2}$) nego na lukovici tretiranoj većom dozom (LM). Duljina je korjenčića najveća na lukovici tretiranoj većom koncentracijom mikoriznih gljiva (LM), ali je najmanja na lukovici tretiranoj manjom koncentracijom (L $\frac{1}{2}$), a ne na kontrolnoj lukovici (LK), kako smo očekivale. Broj izdanaka očekivano je najveći na



lukovici tretiranoj većom koncentracijom mikoriznih gljiva, ali je njihova visina najviša na kontrolnoj lukovici, što također nismo očekivale.

Između korjenčića lukovica tretiranih Mycoflorom uočile smo paučinastu prevlaku i mikroskopirali je. Na mikroskopskom preparatu uočile smo mnoštvo hifa, ali i posebnih tvorevina za koje mislimo da su klamidospore jer smo oko njih vidjele mnogo spora.

Uspoređujući lukovicu koja je rasla s dodatkom mikoriznih gljiva (LM) i lukovicu u kontrolnoj posudi (LK), uočavamo mnogo veću razgranatost korijena i viši izdanak na lukovici LK. Mikroskopirajući korijenčić lukovice koja je rasla u KM, uočavamo manji broj korijenovih dlačica, ali više hifa mikorizne gljive koje zamjenjuju njihovu ulogu.

Tijekom pokusa s pšenicom, uočavamo veći broj i visinu izdanaka tretiranih većom dozom Mycoflora u odnosu na kontrolnu posudu, što je u skladu s pretpostavkom, iako razlika nije velika. Izdanci uvenule pšenice tretirane većom dozom Mycoflora zadržale su više vlage, što je u skladu s očekivanjem (Novak i Benko 2013), budući da mikoriza pomaže biljkama u sušnom razdoblju.

Tijekom cijelog prvog pokusa, broj stabljika graška i njihova visina u posudi s najvećom količinom Mycoflora očekivano je najveća. Grafikon broja prokljalih sjemenki graška u drugom pokusu je očekivan (Novak 1968), jer pokazuje da je više sjemenki graška prokljalo u posudi s većom količinom dodanog Mycoflora. Rast stabljika graška u plastičnim posudama deset dana od postavljanja drugog pokusa pokazuje najveći broj izdanaka u posudi tretiranoj najvećom količinom Mycoflora, nešto je manji u posudi tretiranoj manjom dozom Mycoflora, a najmanji je u kontrolnoj posudi. U posudi tretiranoj manjom dozom mikoriznih gljiva uočavamo najveću razgranatost korijena, a najmanju u kontrolnoj posudi. U prvom pokusu, četiri tjedna od sijanja grašak tretiran manjom dozom mikorize procvao je, a nakon pet tjedana razvio je plod. Grašak u posudi G1 procvao je nakon pet tjedana, ali nije razvio plod. Kontrolna biljka iz ovog pokusa procvala je nakon pet tjedana i nije razvila plod. Rast stabljika graška u posudama za cvijeće opažen je pet dana od postavljanja trećeg pokusa. Najviše je sjemenki prokljalo u G1 posudi, manje u G1/2, a najmanje u kontrolnoj posudi.

Broj stabljika graha u posudi koju smo tretirale malom dozom mikorizne gljive veći je nego u kontrolnoj posudi, ali je veći i od broja stabljika u posudi tretiranoj velikom dozom Mycoflora. Stabljike graha u posudi s velikom dozom Mycoflora trideset dana od postavljanja pokusa više su od stabljika u kontrolnoj te od stabljika u posudi u koju je dodana manja doza Mycoflora. Devet dana nakon postavljanja pokusa u kontrolnoj posudi graha uočile smo pojavu plijesni, dok plijesni nije bilo u posudi tretiranoj Mycoflorom. Opisana razlika u skladu je s pretpostavkom da mikorizna gljiva luči antibiotike koji štite biljku (Novak 1968). Promatrajući klijanje sjemenki graha u zatvorenim posudama, uočile smo najveću vlažnost u posudi u koju je dodana veća količina Mycoflora, manju vlažnost u posudi M1/2, a najmanju u kontrolnoj posudi. Ovo opažanje potvrđuje pretpostavku da mikorizne gljive čuvaju vlagu biljkama. U posudi koja je tretirana većom dozom Mycoflora uočavamo veći broj prokljalih sjemenki graha nego u kontrolnoj posudi.

Praćenjem razvoja lukovice zumbula, uočavamo veći rast izdanka na kontrolnoj lukovici, nešto manji rast izdanka na lukovici tretiranoj manjom količinom Mycoflora, a najmanju visinu izdanka na lukovici



tretiranoj većom količinom Mycoflora. Rezultat nije u skladu s našim očekivanjem, ali na izdanku lukovica tretiranih Mycoflorom uočavamo gušći raspored cvjetova, što pridonosi jačem mirisu ovih biljaka. Šafran nismo mogle pratiti jer je kasno niknuo, ali ipak uočavamo veći broj viših izdanaka u posudi tretiranoj manjom količinom Mycoflora.

Na uzorcima bosiljka zapazile smo podjednak broj izdanaka, ali su izdanci biljke tretirane većom dozom Mycoflora viši od ostalih. Ispitujući jačinu mirisa pokusnih biljaka bosiljka kod 51 ispitanika, veliki je broj ispitanika (62,75%) izjavio da je biljka tretirana većom dozom Mycoflora ujedno i najintenzivnijeg mirisa, upravo prema našim pretpostavkama.

Ukupna potrošnja vode za zalijevanje biljaka je najveća u kontrolnim, a manja u posudama s polovičnom dozom Mycoflora. U većini slučajeva najmanja je u posudama s većom količinom dodanog Mycoflora. Ovi podatci potvrđuju našu pretpostavku da micelij mikorizne gljive skladišti vodu u biljci.

ZAKLJUČCI

- Zumbul i bosiljak uzgajani uz dodatak mikorizne gljive imaju intenzivniji miris.
- Biljke uzgajane uz dodatak mikoriznih gljiva troše manje vode, tj. dulje zadržavaju vlažnost pa lakše preživljavaju sušno razdoblje.
- Mikoriza pospješuje klijanje.
- Korijen biljaka uzgajanih uz dodatak mikoriznih gljiva dulji je i razgranatiji.
- Mikoriza štiti usjev od plijesni.
- Mikoriza može pomoći u poljoprivredi.
- Istraživanja treba nastaviti u laboratoriju, ali i na otvorenim površinama.

LITERATURA

- Dolenec Z., Rusak G. 2011. Živi svijet 2, udžbenik biologije za drugi razred gimnazije: Gljive u simbiozi. Profil International, Zagreb.
- Novak B., Benko B., 2013. Mikoriza u uzgoju povrća. Gospodarski list, 1/2013.
- Novak B., Borošić J., Lešić R., Toth N., Ban D. 1998. Mogućnost uzgoja nekih suptropskih kultura u Hrvatskoj. Zbornik radova "Prilagodba poljoprivrede i šumarstva klimi i njenim promjenama", HAZU, Zagreb: 201-208.
- Novak B., 1968. Učinak endomikorize na neke povrtno kulture. Poljoprivredna znanstvena smotra 63: 187-196.
- Rubatzky V.E., Yamaguchi M. 1996. World vegetables. Chapman & Hall, New York.

UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA RAZVOJ BAKTERIJA

Matko Jukić, 7. razred

Osnovna škola „Retfala“ Osijek

Mentor: Ivana Posavac

SAŽETAK

Bakterije su najbrojniji i jedni od najstarijih jednostaničnih organizama koji nastanjuju Zemlju. Kako bakterije imaju mogućnost razvijanja otpornosti na antibiotike ne začuđuje činjenica kako je utjecaj eteričnih ulja na rast i razvoj različitih mikroorganizama već nekoliko godina tema znanstvenih istraživanja. Prednost eteričnih ulja u istraživanjima je što su ona prirodna, nisu štetna za okoliš i vrlo su jednostavna za primjenu tijekom istraživanja. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi prisutnost bakterija na predmetima s kojima su učenici najviše u doticaju te na hranjivim podlogama ispitati utjecaj pet različitih eteričnih ulja na rast bakterijskih kolonija (cimetovac (*Cinnamomum zeylanicum* Bl.), eukaliptus (*Eucalyptus globulus* L.), limun (*Citrus limon* L.), origano (*Origanum vulgare* L.) i timijan (*Thymus vulgaris* L.)) tijekom određenog vremenskog razdoblja s obzirom na kontrolu. Djelovanje se ispituje u tri koncentracije (100%, 75% i 50%). Nakon obrade rezultata utvrđeno je kako najbolja antibakterijska svojstva nakon dva, tri i četiri dana pri svim koncentracijama pokazuju eterična ulja timijan i origana, nešto slabija antibakterijska svojstva pokazuju eterična ulja cimetovca i eukaliptusa, a najslabije antibakterijsko svojstvo pokazuje eterično ulje limuna.

Ključne riječi: *antibakterijsko djelovanje, hranjive podloge, cimetovac, eukaliptus, limun, origano, timijan*

UVOD

Bakterije su najbrojniji i jedni od najstarijih jednostaničnih organizama koji nastanjuju Zemlju. Mikroskopskih su dimenzija (1-10 μm) i nastanjuju veliki broj staništa (tlo, zrak, vodu, žive i uginule organizme). Zbog njihove veličine ne možemo ih vidjeti golim okom te nas poneka bakterijska zaraza podsjeti na njihovu prisutnost. Bakterije se međusobno razlikuju prema obliku te mogu biti kuglaste ili koki, štapićaste ili bacili i zavojite ili spirili (Krsnik-Rasol 1997). Bakterije se razmnožavaju diobom stanica, prilikom čega od jedne stanice nastaju dvije, a u povoljnim uvjetima (dovoljno hrane i određena temperatura) dioba se ponavlja svakih 20 minuta. U slučaju izloženosti nepovoljnim uvjetima, neke bakterije mogu prijeći u stadij spore, što osigurava preživljavanje bakterija dok ne nastupe povoljni uvjeti za život (Bendelja i sur. 2014).

Eterična ulja

Eterična ulja su koncentrirani prirodni proizvodi aromatičnih biljaka intenzivnog mirisa koja se upotrebljavaju još od davne prošlosti u alternativnoj medicini. Ona u sebi sadrže niz sastojaka koji mogu zaustaviti ili usporiti rast bakterija i drugih mikroorganizama (Bakkali i sur. 2008). Kako bakterije imaju mogućnost razvijanja otpornosti na antibiotike, ne začuđuje činjenica kako je utjecaj eteričnih ulja na rast i razvoj različitih mikroorganizama već nekoliko godina tema znanstvenih istraživanja. Takva istraživanja pokušavaju pronaći druga rješenja koja bi se mogla primijeniti za prevenciju i liječenje bakterijskih bolesti. Važna prednost eteričnih ulja jest to što nisu štetna za okoliš te jednostavnost njihove primjene. Nazzaro i sur. (2013) u svom su istraživanju naveli kako antimikrobna aktivnost eteričnih ulja i mehanizam njihova djelovanja ovise o njihovim sastojcima te na njih mogu djelovati na nekoliko načina, primjerice djelovanjem na membranu ili citoplazmu bakterija. Prema istraživanju Kalemba i Kunicka (2003), u kontaktu s patogenim bakterijama i



gljivama, najjača antimikrobna svojstva pokazala su eterična ulja timijana, origana, metvice, cimetovca, kadulje i klinčića. U istraživanju Oussalah i sur. (2005) o utjecaju 28 različitih eteričnih ulja na razvoj bakterija *Escherichia coli* T. Escherich, *Salmonella typhimurium* Loeffler, *Staphylococcus aureus* Rosenbach i *Listeria monocytogenes* Murray, najbolja antimikrobna svojstva pokazala su sljedeća eterična ulja: mrvinac španjolski, cimetovac list, cimetovac list – kineski, primorski vrisak i origano. Prema posljednjem istraživanju Posavac i sur. (2014) o utjecaju 12 eteričnih ulja na porast fitopatogene gljive *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., najbolje rezultate (nakon šest dana djelovanja) pokazalo je eterično ulje timijana, dok su vrlo slab učinak na usporavanje njezina rasta imala eterična ulja lavande, gorke naranče i bora. U velikom broju istraživanja (Sivropoulou i sur. 1996, Marino i sur. 1999, Unlu i sur. 2010) eterična ulja timijana, origana i cimetovca pokazala su djelotvorna svojstva za sprječavanje razvoja različitih mikroorganizama te su zbog toga odabrana za ovo istraživanje.

Obrazloženje teme

Zbog sveopće prisutnosti bakterija, prvi korak istraživanja je utvrditi prisutnost bakterija na predmetima s kojima su učenici najviše u doticaju. Kao što je prethodno navedeno, bakterije kroz određeno vremensko razdoblje mogu razviti otpornost na antibiotike te je cilj ovog istraživačkog rada utvrditi koje eterično ulje i u kojoj koncentraciji je najdjelotvornije za usporavanje rasta bakterijskih kolonija u određenom vremenskom razdoblju. Drugi razlog istraživanja jest ispitivanje mogućnosti upotrebe alternativnih, „ekološki prihvatljivih“ sredstava za uništavanje bakterija, budući da kemijska sredstva koja se koriste u domaćinstvima mogu imati nadražujuće djelovanje na kožu i dišni sustav te sadrže sastojke koji mogu biti štetni za okoliš i organizme (Terra Organica 2008).

Pretpostavka je kako će najviše bakterija biti razvijeno na tipkovnici računala i mobilnom telefonu iz razloga što su to predmeti s kojima su učenici najčešće u kontaktu (mobilni telefon u slobodno vrijeme, a tipkovnica računala tijekom nastave), nešto manje bakterija očekuje se na kvaki na vratima učionice (ne dotiču svi učenici kvaku na vratima) i radnoj površini stola (stolovi se čiste češće od tipkovnica), a najmanje na rukohvatu stubišta (stubište je mjesto gdje učenici najkraće borave i ne dotiču svi učenici rukohvat prilikom penjanja ili silaženja). S obzirom na rezultate brojnih istraživanja, pretpostavlja se kako će najbolja antibakterijska svojstva pokazati eterična ulja origana i timijana (Rota i sur. 2006, Souza i sur. 2006, Kon i Roi 2012).

MATERIJAL I METODE RADA

Prvi dio istraživanja je prenošenje bakterija s izabranih površina (tipkovnica računala, mobilni telefon, radna ploča stola u učionici, kvaka na vratima učionice i rukohvat stubišta) na hranjive podloge. Kako je za istraživanje odabrano pet površina potrebno je pet hranjivih podloga. Na prvu podlogu pomoću štapića prenesene su bakterije s tipkovnice, na drugu bakterije s mobilnog telefona, na treću sa radne površine stola, na četvrtu s kvake vrata učionice i na petu bakterije s rukohvata stubišta. Sljedeći je korak pregled bakterijskih kolonija pod lupom i mikroskopom (mikroskop 3B, povećanje od 40x do 1000x) i uzimanje uzoraka s hranjive podloge na kojoj je došlo do razvoja najvećeg broja bakterijskih kolonija. Zatim slijedi prijenos uzorka na nove hranjive podloge gdje će se ispitati utjecaj pet različitih eteričnih ulja na rast bakterijskih kolonija: cimetovac (*Cinnamomum zeylanicum* Bl.), eukaliptus (*Eucalyptus globulus* L.), limun (*Citrus limon* L.), origano (*Origanum vulgare* L.) i timijan (*Thymus vulgaris* L.) tijekom dva, tri i četiri dana s obzirom na kontrolu (destilirana voda). Eterična ulja u ovom

istraživanju odabrana prema rezultatima koji su opisani u prethodno navedenim radovima i prema karakteristikama proizvoda koja su pronađena na Internet stranicama „Alternativa za vas“ i „Terra organica“. Zatim slijedi prenošenje bakterijskih kolonija na nove hranjive podloge. Kako se ispituje djelovanje eteričnih ulja u tri koncentracije (100%, 75% i 50%) i kontrola (destilirana voda) u četiri ponavljanja potrebno je ukupno 16 hranjivih podloga.

Hranjive podloge su pripravljene od dekstroza krumpirovog agara u sterilnim uvjetima u tvrtki „Certifikat“ Osijek. Otopine se pripremaju na sljedeći način:

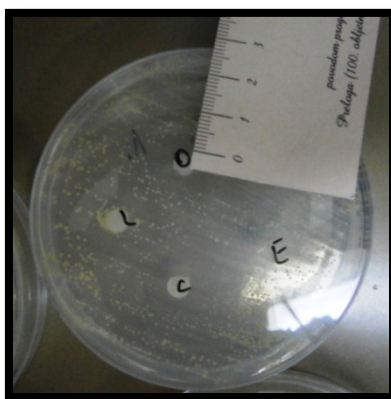
- ❖ koncentracija 50%: 3,5 mL eteričnog ulja i 3,5 mL destilirane vode,
- ❖ koncentracija 75%: 5,25 mL eteričnog ulja i 1,75 mL destilirane vode,
- ❖ koncentracija 100%: nema razrjeđivanja.

Na hranjivim podlogama označava se koncentracija, broj ponavljanja i početno slovo eteričnih ulja (o-origano, t-timijan, e-eukaliptus, c-cimetovac, l-limun) te se bakterije štapićem prenose i razmazuju po cijeloj površini. Nakon toga stavljaju se sterilizirani diskovi od filter-papira na pet podjednako udaljenih mjesta na podlozi. Na svaki disk nanosi se jedna do dvije kapi određenog eteričnog ulja, a u kontroli na diskove stavlja se destilirana voda (slika 1).



Slika 1 Nanošenje eteričnog ulja na hranjive podloge

Tako pripremljene hranjive podloge s bakterijama i eteričnim uljima ostave se na toplom mjestu te se mjere zone djelovanja eteričnih ulja na rast bakterijskih kolonija nakon dva, tri i četiri dana (slika 2).



Slika 2 Mjerenje zone djelovanja eteričnih ulja

Podaci mjerenja se zapisuju u tablicu, izračunava se srednja vrijednost i izrađuju se dijagrami za sve koncentracije kroz određeno vremensko razdoblje.

Sastav eteričnih ulja

Eterična ulja korištena u istraživanju su origano, timijan, eukaliptus, cimetovac i limun (slika 3).



Slika 3 Eterična ulja: origano, timijan, eukaliptus, cimetovac i limun

Prilikom rada s eteričnim uljima i prijenosa bakterija na hranjive podloge kao mjere opreza korištene su zaštitne rukavice, zaštitne naočale i laboratorijska kuta te je sve rađeno u dobro prozračenoj prostoriji sljedeći upute dobivene uz eterična ulja (slika 4).

EN You bought a Pranarôm, number one in Aromatherapy, Chemotyped Essential Oil. You have made a good choice because this essential oil is of excellent quality. Knowing the chemotype of an essential oil i.e. its "biochemical race" allows you to specify the biochemically-active molecule(s) on the therapeutic level. Pranarôm have determined for you the chemotype of this essential oil by gas phase chromatography. The necessity of such a biochemical analysis comes from the fact that the chemotype of an essential oil can highly vary depending on the plant biotope (sunshine, climatic conditions, soil composition, altitude, neighbouring plant population...).

Beside the notion of biochemical specification, other criteria of quality are taken into account: harvesting and cultivation methods, botanical certification and distilled part of the plant and steam distillation process.

Pranarôm carries out a quality control at each stage to guarantee you an Essential oil which is:

- CHEMOTYPED and botanically specified;
- 100% NATURAL not adulterated by synthetic constituents or mineral oils or spirits;
- 100% PURE not blended with any other essential oils, fatty oils or alcohols;
- 100% AUTHENTIC nothing added, nothing taken away.

IMPORTANT NOTE TO READ BEFORE THE USE OF YOUR ESSENTIAL OIL PRANARÔM

- All pure essential oils must be used very carefully.
- When essential oils are applied on the skin they must be diluted in suited vectors (gel, cream, vegetable oils) Only some essential oils can be used pure in cutaneous application by experienced consumers.
- The essential oils of cinnamon, peppermint and Labrador tea must be used with particular care; they must never be pure and they may be ingested only on specialised medical advice.
- As a general precaution it is preferable not to use essential oils during pregnancy (especially the first 3 months) and for children until 3 years old. Only a physician specialised in aromatherapy can take the responsibility.
- Never make use of essential oils in intravenous or intramuscular injections.
- Never apply pure essential oils in the eyes, in the nose, in the ears and in the anogenital area; in case of accidental application, apply Calendula oil.
- In case of accidental ingestion of a great quantity of essential oils (from 0.5ml), swallow immediately a mild vegetable oil (olive, sunflower) and call a poison centre.
- When a citrus aromatic essence is applied on the skin, avoid a direct exposure in the sunshine because all citrus essence are photosensitizing during 4 to 5 hours.
- For a perfect use of the dropper, it is advised to hold the vials horizontally.

Slika 4. Upute dobivene uz eterična ulja

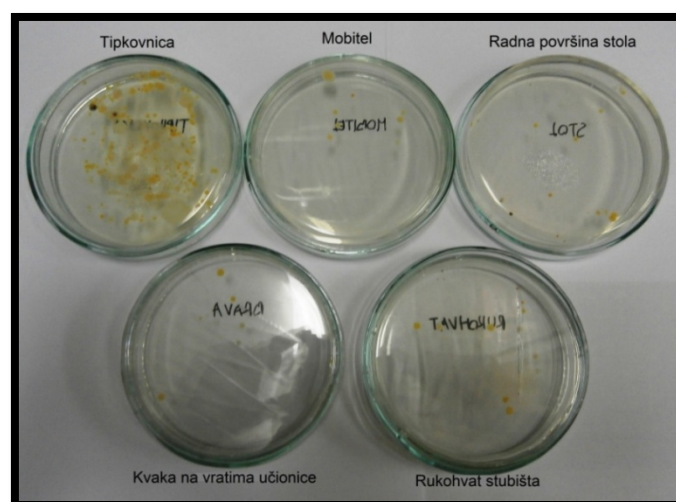
U nastavku se nalazi kratak opis djelovanja i glavni sastojci pojedinih eteričnih ulja. Ulje divljeg origana (*Origanum minutiflorum* L.) je 100% čisto organsko ulje proizvedeno u Turskoj. Glavni sastojak je karvakrol koji ima snažan antibakterijski učinak. Ulje divljeg origana djelotvorno je protiv većine bakterija koje uzrokuju infekcije debelog crijeva, urinarnog trakta i kože. Eterično ulje timijana (*Thymus vulgaris* L.) je 100% čisto eterično ulje proizvedeno u Indiji. Glavni sastojak timijana je linalol i njegov sadržaj može varirati od 50 do 80%. Djeluje antimikrobno i preporučuje se kod dišnih,

mokraćnih i gljivičnih infekcija. Eterično ulje cimetovca (*Cinnamomum zeylanicum* Bl.) je 100% čisto eterično ulje proizvedeno u Šri Lanki. Glavni sastojak ulja je eugenol. Ulje ima snažno antibakterijsko djelovanje, potiče imunitet te djeluje antivirusno. Eterično ulje eukaliptusa (*Eucalyptus globulus* L.) je 100% čisto eterično ulje proizvedeno u Portugalu čiji je glavni sastojak 1,8-cineol (75%). Djeluje protiv dišnih infekcija te gljivičnih infekcija kože. U Europi je registriran kao prirodni začinski ekstrakt za hranu. Eterično ulje limuna (*Citrus limon* L.) čisto je eterično ulje dobiveno iz usplođa biljke limuna. Proizvedeno je u Italiji te mu je glavna aktivna tvar limonen. Djeluje kod infekcija dišnog sustava, čestih zaraznih bolesti te se može primijeniti za dezinfekciju prostora (Lovrenc 2012).

REZULTATI

Tjedan dana nakon uzimanja uzoraka hranjive podloge su pregledane i kao što je pretpostavljeno najviše bakterijskih kolonija bilo je razvijeno upravo na podlozi na koju su prenesene bakterije s tipkovnice računala (slika 5).

Rezultati mjerenja zone djelovanja (udaljenost od diska do najbliže bakterijske kolonije) oko svakog diska nakon dva, tri i četiri dana zapisani su u tablice (tablice 1, 2, 3 i 4).



Slika 5 Razvijene kolonije bakterija

Tablica 1 Mjerenje zone djelovanja destilirane vode na razvoj bakterijskih kolonija (kontrola)

Broj ponavljanja	1.	2.	3.	4.	Srednja vrijednost
Kontrola	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Tablica 2 Mjerenje zona djelovanja eteričnih ulja pri koncentracijama od 50%, 75% i 100% nakon dva dana

Koncentracija od 50%					
Eterično ulje/posudica	1.	2.	3.	4.	Srednja vrijednost
Origano	6 mm	Nema porasta	4 mm	4 mm	4,67 mm
Timijan	7 mm	Nema porasta	2 mm	3 mm	4 mm
Eukaliptus	2 mm	Nema porasta	3 mm	3 mm	2,67 mm
Cimetovac	4 mm	Nema porasta	7 mm	4 mm	5 mm
Limun	0 mm	Nema porasta	1 mm	0 mm	0,34 mm



Koncentracija od 75%					
Eterično ulje/posudica	1.	2.	3.	4.	Srednja vrijednost
Origano	Nema porasta	8 mm	15 mm	7 mm	10 mm
Timijan	Nema porasta	8 mm	13 mm	9 mm	10 mm
Eukaliptus	Nema porasta	3 mm	14 mm	9 mm	8,67 mm
Cimetovac	Nema porasta	4 mm	15 mm	10 mm	9,67 mm
Limun	Nema porasta	0 mm	10 mm	0 mm	3,32 mm
Koncentracija od 100%					
Eterično ulje/posudica	1.	2.	3.	4.	Srednja vrijednost
Origano	Nema porasta	15 mm	11 mm	5 mm	10,34 mm
Timijan	Nema porasta	15 mm	9 mm	11 mm	11,67 mm
Eukaliptus	Nema porasta	13 mm	3 mm	9 mm	8,34 mm
Cimetovac	Nema porasta	15 mm	3 mm	8 mm	8,67 mm
Limun	Nema porasta	13 mm	0 mm	0 mm	4,34 mm

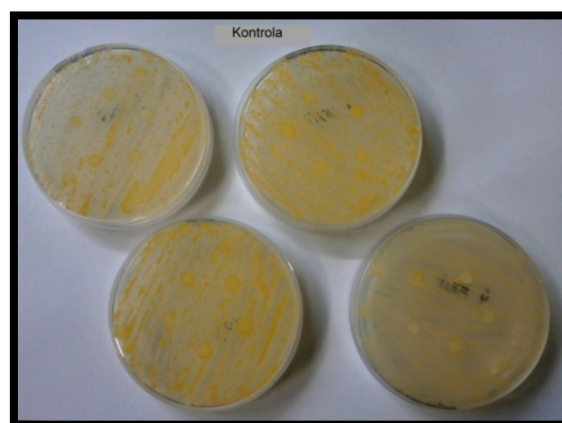
Tablica 3 Mjerenje zona djelovanja eteričnih ulja pri koncentracijama od 50%, 75% i 100% nakon tri dana

Koncentracija od 50%					
Eterično ulje/posudica	1.	2.	3.	4.	Srednja vrijednost
Origano	5 mm	Nema porasta	3 mm	2 mm	3,34 mm
Timijan	6 mm	Nema porasta	2 mm	3 mm	3,67 mm
Eukaliptus	2 mm	Nema porasta	3 mm	3 mm	2,67 mm
Cimetovac	4 mm	Nema porasta	0 mm	2 mm	2 mm
Limun	0 mm	Nema porasta	0,5 mm	0 mm	0,17 mm
Koncentracija od 75%					
Eterično ulje/posudica	1.	2.	3.	4.	Srednja vrijednost
Origano	Nema porasta	7 mm	15 mm	7 mm	9,67 mm
Timijan	Nema porasta	8 mm	13 mm	9 mm	10 mm
Eukaliptus	Nema porasta	3 mm	14 mm	9 mm	8,67 mm
Cimetovac	Nema porasta	4 mm	14 mm	9 mm	9 mm
Limun	Nema porasta	0 mm	8 mm	0 mm	2,67 mm
Koncentracija od 100%					
Eterično ulje/posudica	1.	2.	3.	4.	Srednja vrijednost
Origano	Nema porasta	15 mm	9 mm	4 mm	9,33 mm
Timijan	Nema porasta	15 mm	5 mm	11 mm	10,34 mm
Eukaliptus	Nema porasta	11 mm	3 mm	9 mm	7,67 mm
Cimetovac	Nema porasta	15 mm	3 mm	8 mm	8,67 mm
Limun	Nema porasta	11 mm	0 mm	0 mm	3,67 mm

Tablica 4 Mjerenje zona djelovanja eteričnih ulja pri koncentracijama od 50%, 75% i 100% nakon četiri dana

Koncentracija od 50%					
Eterično ulje/posudica	1.	2.	3.	4.	Srednja vrijednost
Origano	4 mm	Nema porasta	3 mm	1 mm	2,67 mm
Timijan	5 mm	Nema porasta	2 mm	3 mm	3,34 mm
Eukaliptus	2 mm	Nema porasta	3 mm	3 mm	2,67 mm
Cimetovac	4 mm	Nema porasta	0 mm	2 mm	3,00 mm
Limun	0 mm	Nema porasta	0 mm	0 mm	0 mm
Koncentracija od 75%					
Eterično ulje/posudica	1.	2.	3.	4.	Srednja vrijednost
Origano	Nema porasta	7 mm	15 mm	6 mm	9,34 mm
Timijan	Nema porasta	8 mm	12 mm	9 mm	9,67 mm
Eukaliptus	Nema porasta	2 mm	14 mm	7 mm	7,67 mm
Cimetovac	Nema porasta	4 mm	14 mm	8 mm	8,67 mm
Limun	Nema porasta	0 mm	7 mm	0 mm	2,34 mm
Koncentracija od 100%					
Eterično ulje/posudica	1.	2.	3.	4.	Srednja vrijednost
Origano	Nema porasta	15 mm	8 mm	4 mm	9 mm
Timijan	Nema porasta	15 mm	5 mm	10 mm	10 mm
Eukaliptus	Nema porasta	11 mm	3 mm	9 mm	7,67 mm
Cimetovac	Nema porasta	14 mm	3 mm	6 mm	7,67 mm
Limun	Nema porasta	11 mm	0 mm	0 mm	3,67 mm

Kontrola (destilirana voda) je već nakon dva dana u sva četiri ponavljanja pokazala kako nema nikakvo djelovanje na usporavanje rasta bakterija (slika 6).

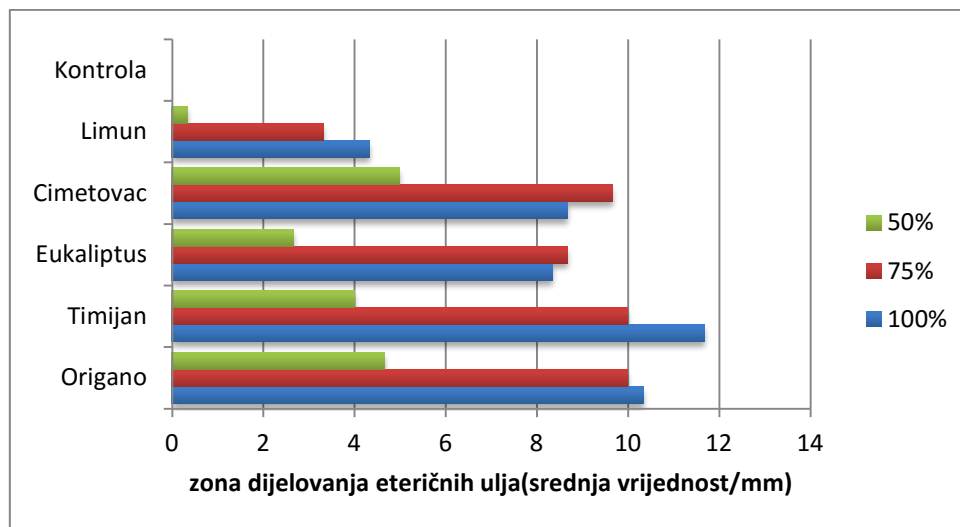


Slika 6 Razvoj bakterijskih kolonija u kontroli nakon dva dana

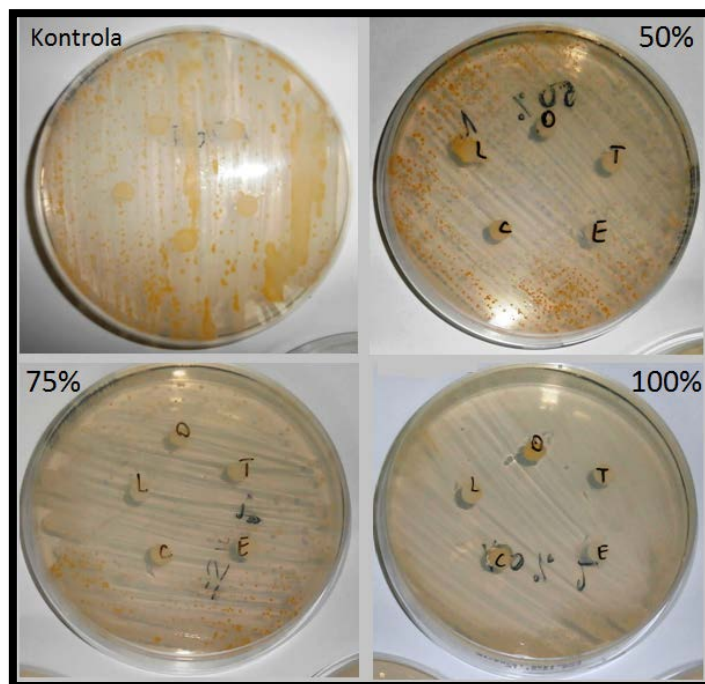
Rezultati nakon dva dana

Rezultati mjerenja zone djelovanja eteričnih ulja nakon dva dana pokazuju kako pri koncentraciji od 100% eterično ulje timijana (11,67 mm) ima najbolje antibakterijsko svojstvo te nešto slabije

djelovanje pokazuje eterično ulje origana (10,34 mm) s obzirom na kontrolu. Pri koncentraciji od 75% najbolja antibakterijska svojstva pokazuju eterična ulja origana (10 mm) i timijana (10 mm), a nešto slabije djelovanje pokazuje eterično ulje cimetovca (9,67 mm) u odnosu na kontrolu. Pri koncentraciji od 50% najbolje antibakterijsko svojstvo ima eterično ulje cimetovca (5 mm), a nešto slabije djelovanje ima eterično ulje origana (4,67 mm) u odnosu na kontrolu. Najslabije antibakterijsko svojstvo u sve tri koncentracije pokazuje eterično ulje limuna (50%- 0,34 mm, 75%- 3,32 mm, 100%- 4,34 mm), dok je eterično ulje eukaliptusa pokazalo dobro djelotvorno svojstvo s obzirom na kontrolu i na eterična ulja koja su postigla najbolji učinak (slika 7 i slika 8).



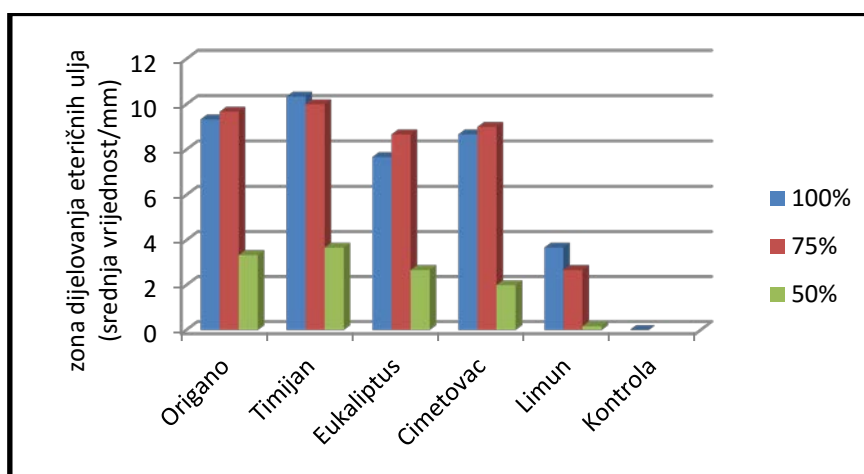
Slika 7 Rezultati mjerenja zone djelovanja eteričnih ulja nakon dva dana



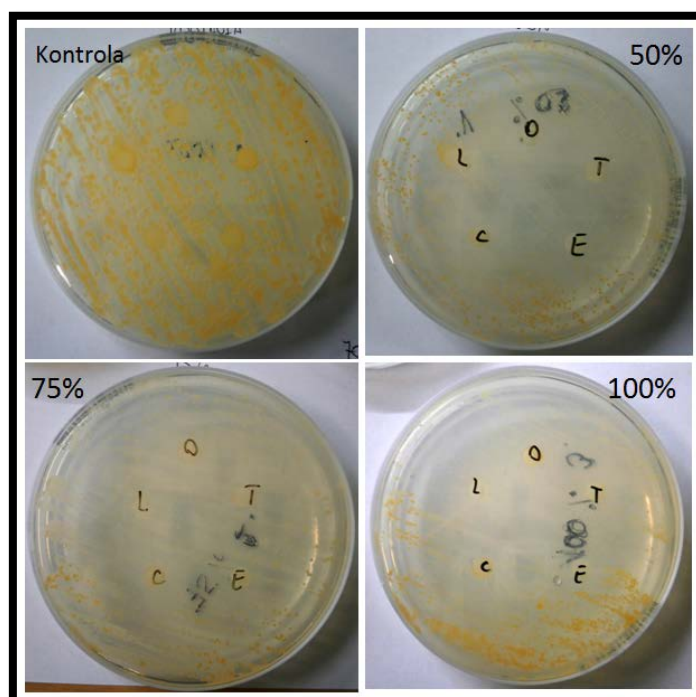
Slika 8 Porast bakterijskih kolonija nakon dva dana (O – origano, T – timijan, E – eukaliptus, C – cimetovac, L – limun)

Rezultati nakon tri dana

Rezultati mjerenja zone djelovanja nakon tri dana pokazuju kako pri koncentraciji od 100% eterično ulje timijana (10,34 mm) ima najbolje antibakterijsko svojstvo, a nešto slabije djelovanje pokazuje eterično ulje origana (9,33 mm) u odnosu na kontrolu. Pri koncentraciji od 75% najbolje antibakterijsko svojstvo također ima eterično ulje timijana (10 mm) te ponovno nešto slabije svojstvo pokazuje eterično ulje origana (9,67 mm) u odnosu na kontrolu. Pri koncentraciji od 50% najbolje antibakterijsko svojstvo ponovno pokazuje eterično ulje timijana (3,67 mm), a nešto manje djelotvorno eterično ulje origana (3,34 mm) u odnosu na kontrolu. Najslabije antibakterijsko svojstvo u sve tri koncentracije ima eterično ulje limuna (50%-0,17 mm, 75%- 2,67 mm, 100%- 3,67 mm), dok su eterična ulja eukaliptusa i cimetovca pokazala dobra djelotvorna svojstva s obzirom na kontrolu i na eterična ulja koja su pokazala najbolji učinak (slika 9 i slika 10).



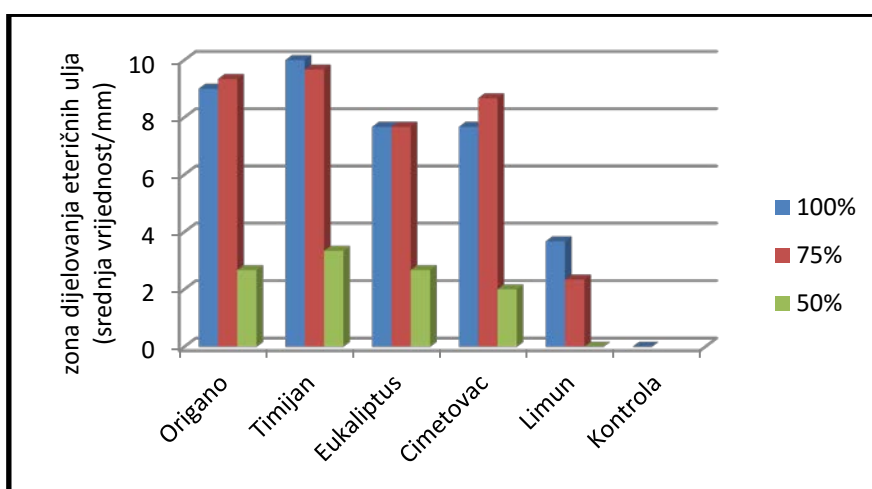
Slika 9 Rezultati mjerenja zone djelovanja eteričnih ulja nakon tri dana



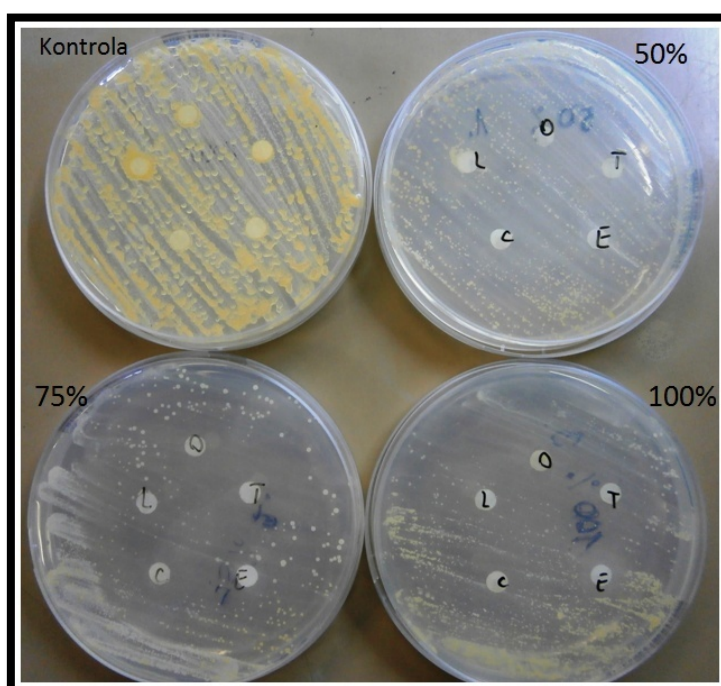
Slika 10 Porast bakterijskih kolonija nakon tri dana (O – origano, T – timijan, E – eukaliptus, C – cimetovac, L – limun)

Rezultati nakon četiri dana

Rezultati mjerenja zone djelovanja nakon četiri dana pokazuju kako pri koncentraciji od 100% eterično ulje timijana (10 mm) i dalje ima najbolje antibakterijsko svojstvo, dok eterično ulje origana (9 mm) ima nešto slabije djelovanje u odnosu na kontrolu. Pri koncentraciji od 75% najbolje antibakterijsko svojstvo ponovno pokazuje eterično ulje timijana (9,67 mm) te nešto slabije eterično ulje origana (9,34 mm) u odnosu na kontrolu. Pri koncentraciji od 50% najbolje antibakterijsko svojstvo i dalje ima eterično ulje timijana (3,34 mm) u odnosu na kontrolu. Najslabije antibakterijsko svojstvo u sve tri koncentracije ima eterično ulje limuna (50%- 0 mm, 75%- 2,34 mm, 100%- 3,67 mm), dok je eterično ulje eukaliptusa pokazalo dobro djelotvorno svojstvo s obzirom na kontrolu i na ulja koja su pokazala najbolji učinak (slika 11 i slika 12).

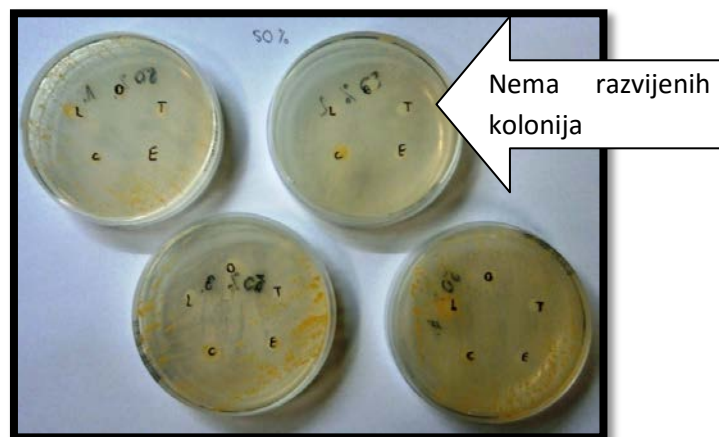


Slika 11 Rezultati mjerenja zone djelovanja eteričnih ulja nakon četiri dana

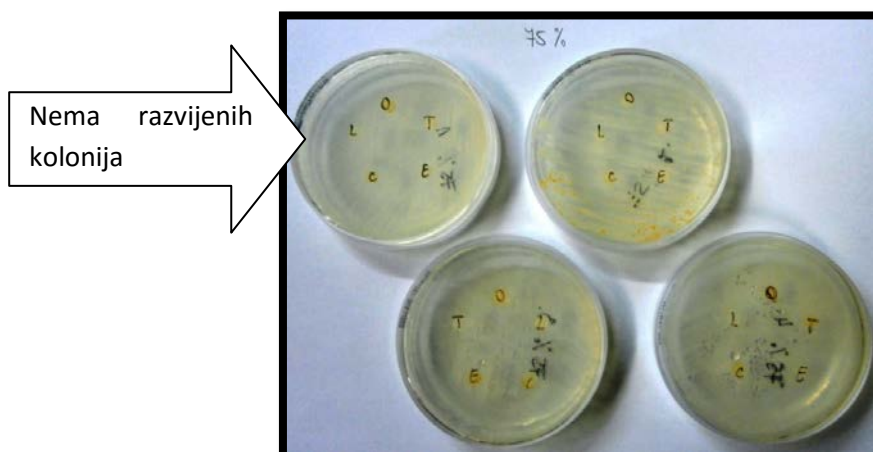


Slika 12 Porast bakterijskih kolonija nakon četiri dana (O – origano, T – timijan, E – eukaliptus, C – cimetovac, L – limun)

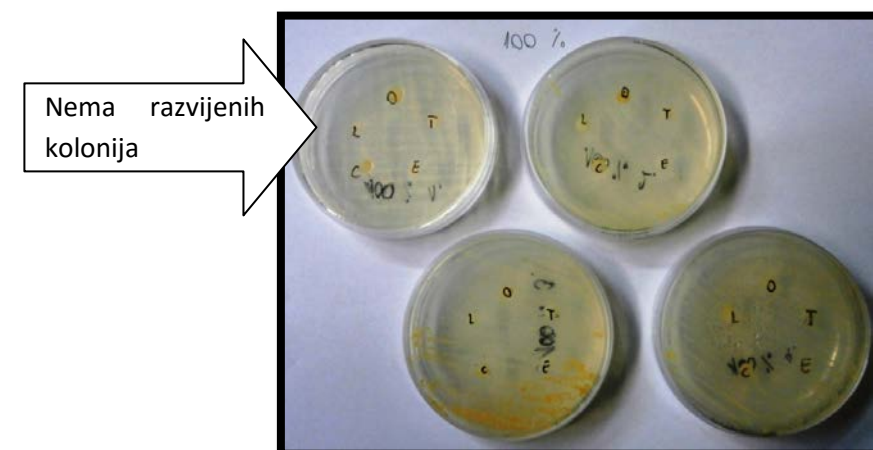
Prilikom pregleda hranjivih podloga uočen je izostanak porasta bakterijskih kolonija na po jednoj podlozi svake koncentracije (slika 13, slika 14 i slika 15). Navedeno bi se moglo tumačiti kao 100%-tno inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na razvoj bakterijskih kolonija što nije u skladu s trima preostalim ponavljanjima u svakoj koncentraciji. Kako takva odstupanja ne bi utjecala na krajnje rezultate mjerenja i računanja srednje vrijednosti tri su podloge izuzete su iz istraživanja.



Slika 13 Podloga bez razvijenih bakterijskih kolonija u koncentraciji od 50%



Slika 14 Podloga bez razvijenih bakterijskih kolonija u koncentraciji od 75%



Slika 15 Podloga bez razvijenih bakterijskih kolonija u koncentraciji od 100%



RASPRAVA

Prvo mjerenje djelovanja eteričnih ulja na razvoj bakterijskih kolonija nakon dva dana od postavljanja istraživanja pokazalo je kako najbolja antibakterijska svojstva kod svih koncentracija pokazuju timijan i origano te cimetovac pri koncentracijama od 50% i 75%. Ovi rezultati u skladu su s istraživanjem Kalembe i Kunicka (2003) u kojem je pokazano kako najbolja svojstva na patogene bakterije i gljive imaju eterična ulja timijana, origana i cimetovca. Drugo i treće mjerenje pokazuju kako u sve tri koncentracije najbolje antibakterijsko svojstvo na porast bakterijskih kolonija ima eterično ulje timijana, dok je ulje origana pokazalo nešto slabiji, ali vrlo dobar učinak što se slaže s istraživanjem Oussalah i sur. (2005), gdje osim eteričnog ulja cimetovca i primorskog vriska, ulje origana pokazuje značajna svojstva na usporavanje rasta bakterija kao što su *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes*. Značajna svojstva timijana na usporavanje rasta bakterijskih kolonija u skladu su s istraživanjem utjecaja eteričnih ulja gdje timijan nakon šest dana pokazuje značajna svojstva u usporavanju rasta patogene gljive *Macrophomina phaseolina* u odnosu na kontrolu (destilirana voda) (Posavac i sur. 2014). Prema istraživanju Nazzaro i sur. (2013), djelovanje eteričnih ulja ovisi o njihovim sastojcima koji imaju različit način djelovanja na mikroorganizme. Primjerice, neka eterična ulja djelovat će na membranu bakterije što će uzrokovati određene promjene i na taj način može spriječiti daljnje razmnožavanje bakterija, dok će neka druga eterična ulja, tj. njihove djelatne tvari djelovati na neke druge strukture u bakterijskoj stanici. Temeljem navedenog možemo zaključiti kako bi najbolje bilo zajedničko djelovanje djelatnih tvari iz pojedinih eteričnih ulja na sprječavanje rasta mikroorganizama. Sukladno tome možemo reći kako timijan i origano imaju djelatne tvari koje imaju najbolji učinak za sprječavanje razvoja bakterijskih kolonija (timijan-linalol, origano-karvakrol), nešto slabiji učinak imaju djelatne tvari iz cimetovca (eugenol) i eukaliptusa (1,8-cineol), a najslabiji učinak u ovome slučaju ima djelatna tvar limuna (limonen). Ovaj istraživački rad pokazao je kako eterična ulja imaju određenu antibakterijsku ulogu te kako postoji mogućnost uporabe u obliku sredstva za dezinfekciju različitih površina kao zamjena za neka kemijska sredstva koja mogu agresivno djelovati na kožu i sluznicu ljudi te štetno djelovati na organizme u okolišu (OCA 2015).

ZAKLJUČCI

Tijekom istraživanja utvrđeni su sljedeći zaključci:

- ❖ Pregledom bakterijskih kolonija nakon sedam dana od nanošenja različitih uzoraka na hranjive podloge utvrđeno je kako najviše razvijenih bakterijskih kolonija ima na uzorku s tipkovnice računala, a najmanje na uzorku s rukohvata stubišta.
- ❖ Mjerenje zona djelovanja eteričnih ulja na porast bakterijskih kolonija pri svim koncentracijama nakon dva, tri i četiri dana u odnosu na kontrolu pokazuje sljedeće rezultate:
 - Najbolje antibakterijsko svojstvo ima eterično ulje timijana.
 - Vrlo dobro antibakterijsko svojstvo pokazuje eterično ulje origana.
 - Dobra antibakterijska svojstva pokazuju eterična ulja cimetovca i eukaliptusa.
 - Najslabije antibakterijsko djelovanje pokazuje eterično ulje limuna.

LITERATURA

- Lovrenc M. 2012. Kako održati čistoću doma prirodnim sredstvima. Prirodnim putem do zdravlja. Alternativa za vas. <http://alternativa-za-vas.com/>, pristupljeno 20.12.2014.
- Terra Organica 2008. <http://www.terra-organica.hr/>, pristupljeno 20.12.2014.



- OCA 2015. How Toxic Are Your Household Cleaning Supplies? Organic Consumers Association.
<http://www.organicconsumers.org/news/how-toxic-are-your-household-cleaning-supplies>, pristupljeno 6.3.2015.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology 46:446-475.
- Bendelja D., Benović I., Culjak Đ., Operta E., Pavić M., Roščak R., Valečić H. 2014. Bakterije, Biologija 7. Školska knjiga, Zagreb, str. 18-20.
- Kalembe D., Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils, Curr Med Chem. 10: 813-829.
- Krsnik-Rasol M. 1997. Prokariotske stanice i organizmi, Od molekule do organizma. Školska knjiga, Zagreb, str. 39-43.
- Kon K., Rai M. 2012. Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* Essential oil alone and in combination with other essential oils, Bioscience, 4(2):50-56.
- Marino M., Bersani C., Comi G. 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. Journal of Food Protection 9:975-1096.
- Nazzaro F., Fratianni F., DeMartino L., Coppola R., DeFeo V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria, Pharmaceuticals (Basel) 6: 1451-1474.
- Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M. 2005. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control 18:414-420.
- Posavac I., Vrandečić K., Čosić J. 2014. Utjecaj eteričnih ulja na porast *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Glasnik zaštite bilja 37: 70-74.
- Rota M. C., Herrera A., Martínez R. M., Sotomayor J. A., Jordán M. J. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils., Food Control 19: 681-687.
- Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of origanum essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 44: 1202-1205.
- Souza E. L., Montenegro Stamford T. L., Oliveira Lima E. 2006. Sensitivity of spoiling and pathogen food-related bacteria to *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil. Brazilian Journal of Microbiology 37: 527-532.
- Unlu M., Ergene E., Vardar Unlu G., Sivas Zeytinoglu H., Vural N. 2010. Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). Food and Chemical Toxicology 48: 3274-3280.

BOJA OČIJU NAŠIH UČENIKA

Sara Bedeniković, 8. razred

I. osnovna škola Varaždin, Varaždin

Mentor: Karmen Zgrebec

SAŽETAK

Genetika je znanost o nasljeđivanju, drugim riječima, znanost koja utvrđuje povezanost procesa i pojava na kojima se temelji prenošenje nasljednih svojstava. U ovom radu promatrana su nasljedna svojstva boje očiju. Cilj je bio utvrditi učestalost pojave dominantne smeđe kao i međusobni odnos pojavnosti pojedinih boja očiju. Koristeći direktnu metodu (prebrojavanje boja očiju kod učenika) i metodu ocjene učestalosti (izražena pojavnost pojedine boje u odnosu na cjelokupan broj ispitanika), dobiveni su rezultati potvrdili postavljenu hipotezu da će najveći broj učenika imati smeđu boju očiju. Prema rezultatima čak 50.10 % ispitanih učenika ima upravo tu boju očiju što je u razini rezultata za cjelokupnu svjetsku populaciju (op. 55%). Dobivene bismo rezultate mogli protumačiti s poznatim genima odgovornim za boju očiju, genima gey (smješten na 19. kromosomu), bey1 te bey 2 (smješteni na 15. kromosomu). Upravo zbog činjenice da više gena utječe na fenotipski izražaj boje očiju, svojstvo boje očiju nazivamo poligeno. Alel za smeđu boju dominantan je nad alelima za zelenu i plavu i ako postoji, oči će uvijek biti smeđe boje. Istovremeno, plava boja očiju biti će prisutna samo u slučaju kada su sva četiri alela za plavu boju budući da je plava boja očiju recesivno svojstvo. Stoga smo potvrdili da su dominantni geni jači, prevladavajući i da su svojstva koja oni određuju, uvijek kad postoje, izražena. Suprotno tome, recesivni geni određuju potisnuta, prikrivena svojstva. Bitno je naglasiti da navedeni geni nisu jedini koji utječu na ekspresiju boje očiju. Za boju očiju koja je multifaktorijsko svojstvo, veliku važnost ima i količina melanina u šarenici koja između ostalog može dovesti do heterokromije, posljedice nejednolike raspodjele melanina. Sintezom melanina upravljaju dva gena na 15. kromosomu, geni OCA2 i HERC2.

Ključne riječi: genetika, gen, alel, melanin

UVOD

Općenito o genetici

Nasljeđivanje je izuzetno složen fiziološki proces koji je u posljednje vrijeme predmet ponajvećih istraživanja, a proučava ga genetika. Genetika (grč. genno = roditi, stvoriti) je znanost iz područja biologije koja se bavi genima, njihovom molekularnom strukturom i funkcijom, njihovim izražavanjem i pojavljivanjem u populaciji, ali i proučavanjem pojava i uzroka međusobne sličnosti, kao i različitosti. Još od davnina, ova je znanost, kao i sve vezano uz nju, u značajnoj mjeri intrigirala velike umove. Međutim, svoj veliki razvoj genetika doživljava znatno kasnije. Osoba koja je postavila temelje znanosti o nasljeđivanju jest znanstvenik Gregor Mendel čijim postavljanjem zakona o nasljeđivanju 1865. godine započinje eksplozivni razvoj te iznimno važne znanosti. Od Mendelovih zakona o nasljeđivanju i njegovih prvih pokusa s graškom kojima je objasnio križanje pa sve do objavljivanja prikaza humanog genoma 2001. godine, genetika se polako razvijala objašnjavajući postepeno segmente nasljeđivanja. Ono što je ostalo nepromijenjeno jest činjenica da je genetika bila i ostala empirijska znanost. U središtu svega nalazi se eksperiment kojim se provjerava određena hipoteza koja će se sukladno rezultatima prihvatiti ili odbaciti.

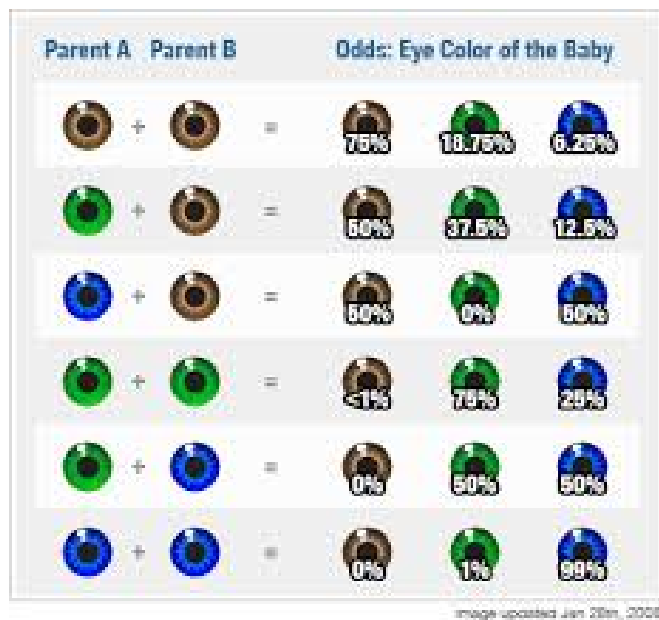
Dominantni i recesivni geni

Zbog značajnog razvoja genetike, danas znamo protumačiti razliku između recesivnih i dominantnih gena. Svojstva koja određuje neki gen jača su i izražena već kod prve generacije potomaka pa stoga takve gene nazivamo dominantnim genima. Gene za svojstva koja nisu izražena, već prikrivena u

prisutnosti dominantnih gena, nazivamo recesivnim genima (Bendelja i sur. 2014, Bastić i sur. 2009). Navedene su nam činjenice vrlo bitne za razumijevanje principa nasljeđivanja što će, između ostalog, biti detaljno opisano u ovom radu gdje će dominantna i recesivna svojstva biti istražena i objašnjena na primjeru nasljeđivanja boje očiju. Kako bi se u potpunosti razumjela terminologija u nastavku rada, potrebno je objasniti još i pojmove genotipa i fenotipa te gena i alela. Genotip je zbroj svih nasljednih faktora (gena) koji određuju nasljedna svojstva nekog organizma. Kažemo da genotip predstavlja ukupnu materijalnu osnovu nasljeđa. S druge strane, fenotip je mjerljivo svojstvo (morfološka ili biokemijska osobina) nastalo kao rezultat međudjelovanja genotipa i okoliša. Govoreći o genima, govorimo o nosiocima nasljednih osobina koje se prenose s roditelja na potomstvo. Alel je pak jedna inačica (varijanta) gena. U stanicama uvijek imamo parove alela, jer smo jedan par alela naslijedili od majke, a drugi od oca. Par alela, primjerice aleli AA, čine jedno svojstvo (osobinu).

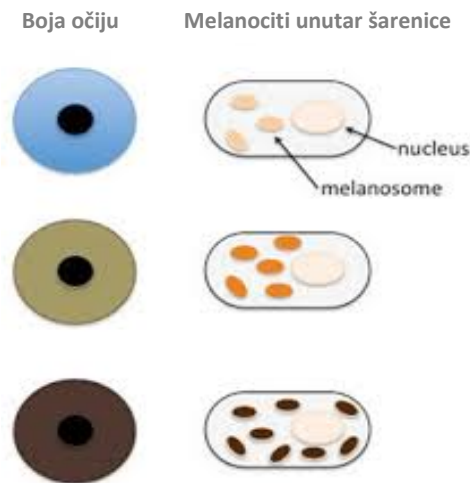
Nasljeđivanje boje očiju

Boja očiju svakako je jedno od nasljednih svojstava koja intrigira cjelokupnu populaciju. Naime, nije riječ samo o nasljednom svojstvu koje je kao takvo zanimljivo znanstvenicima za istraživanje, već je nasljeđivanje boje očiju zanimljivo širokom spektru ljudi, od male djece do budućih majki. Genetičku podlogu nasljeđivanja boje očiju možemo objasniti upravo na principu dominantnih i recesivnih gena. Do nedavno je bilo uvriježeno mišljenje da je boja očiju određena jednim genom te se alel za smeđu boju očiju smatrao dominantnim nad alelom za plavu boju očiju. No, pozadina nasljeđivanja ovog svojstva zapravo nije tako jednostavna. Kada govorimo o nasljeđivanju boje očiju, bitno je naglasiti da je ovdje riječ o tzv. poligenom, tj. multifaktorijskom nasljeđivanju. Znači, na ekspresiju pojedinog svojstva u fenotipu utječe više različitih gena, ali i brojni drugi faktori, prije svega okolišni čimbenici.



Danas su poznata tri gena koja su uključena u kontrolu boje očiju u čovjeka (slika 1). Dva para gena smještena su na 15. kromosomu dok je jedan smješten na 19. Gen bey2, smješten na 15. kromosomu, dolazi u alelnim formama za plavu i smeđu boju. Gen gey na 19. kromosomu dolazi u alelnim formama za plavu i zelenu boju. Treći gen bey1, na 15. kromosomu, centralni je gen za smeđu boju očiju. Princip nasljeđivanja boje očiju ekspresijom ovih gena, poštujući pravila o dominantnim i recesivnim genima, primjenjiv je isključivo na čisto smeđe, zelene i plave oči.

Slika 1 Odnos dominantnih i recesivnih svojstava u nasljeđivanju boje očiju



Slika 2 Ovisnost boje očiju o količini melanina

Ovdje je potrebno u obzir uzeti i promjene boje očiju kroz život zbog utjecaja melanina kao i mogućih patoloških stanja. Boja očiju u čovjeka određena je količinom pigmenta melanina koji je prisutan u šarenici oka (slika 2). Uz prisutnost veće količine melanina, oko će izgledati smeđe, dok će u pomanjkanju melanina oko biti plavo. Upravo zbog toga su oči u novorođenčadi plave boje budući da ne započinje odmah produkcija melanina u njihovoj šarenici, no kasnije se mogu promijeniti. Sve navedeno jasno nam dočarava kompleksnost ovog procesa.

Budući da je riječ o ovako kompleksnoj temi, nasljeđivanje boje očiju, kao i frekvenciju učestalosti pojedine boje, prikaz ćemo detaljno u nastavku.

Obrazloženje teme

Aktualnost i značaj odabrane teme

Genetika, kao znanost koja se bavi svim problemima nasljeđivanja u čovjeka te pojavom i uzrocima sličnosti, tema je svakodnevica. Iako bi se moglo pretpostaviti da kao empirijska znanost intrigira samo znanstvene umove, genetiku spominjemo svakodnevno, a da toga možda nismo ni svjesni. Svaki put kad kažemo „to nam je u obitelji” ili „ima majčine oči”, govorimo o nasljednosti, odnosno o genetikici. Upravo je zanimanje za boju očiju možda i najbolji primjer koliko je genetika infiltrirana u današnje društvo. Boju očiju promatraju i spominju svi: mala djeca, zaljubljeni, buduće majke... I uvijek su prisutna ona klasična pitanja: Koja je boja očiju ljepša? Zašto netko ima baš tu boju očiju? Kako djeca smeđookih roditelja mogu imati oči plave boje? Koja je boja očiju najčešća?...

Zbog iznimne važnosti ove teme za društvo, kao i zbog zanimljive i kompleksne genetske podloge iste, cilj je ove radnje provjeriti neka od gorućih pitanja na temelju ispitivanja isječka populacije osnovnoškolaca te pokušati objasniti procese koji stoje u genetskoj pozadini tih pitanja. Nasljedna se svojstva, odnosno njihove materijalne osnove, prenose s jedne generacije na drugu rasplodnim procesima. Pri tome treba dobro razlikovati njihova vidljiva svojstva (fenotip), od stvarnog nasljeđa



(genotipa), koje može djelomično ostati neizraženo. Sve će navedeno biti predmetom razmatranja ove radnje.

Postavljanje hipoteze i cilja istraživanja

Prije samog istraživanja postavili smo nekoliko pitanja:

1. Kakve su boje oči učenika naše škole?
2. Čime je određena boja očiju?
3. Kakva mora biti kombinacija genotipa da bi fenotipski boja došla do izražaja?

Postavljena pitanja bila su nam misao vodilja k našem cilju istraživanja.

Cilj istraživanja, sažet u dvije točke, glasi:

- ❖ istražiti učestalost dominantnih osobina (smeđih i zelenih očiju) i recesivnih osobina (plavih očiju)
- ❖ utvrditi pojavnost smeđih očiju u odnosu na zelene.

Kako je genetika empirijska znanost, da bismo krenuli u istraživanje neke teme, potrebno je prvotno postaviti hipotezu.

Hipoteza ove radnje:

- ❖ pretpostavlja se da će najviše učenika naše škole imati smeđe oči, jer je to dominantno svojstvo u odnosu na recesivne plave oči
- ❖ budući da su zelene oči također dominantne u odnosu na plave, ali recesivne u odnosu na smeđe, pretpostavlja se da će više učenika imati zelene oči, a najmanji broj plave oči.

MATERIJAL I METODE RADA

Uzorak

Uzorci su prikupljeni na isječku osnovnoškolske populacije učenika, tj. 264 polaznika razrednih odjeljenja od petog do osmog razreda te 227 polaznika prvog do četvrtog razreda I. osnovne škole Varaždin.

Tijekom istraživanja praćena je pojava i učestalost boje očiju učenika.

Metode

U istraživanju su korištene dvije metode: direktna metoda i metoda ocjene učestalosti.

1. Direktna se metoda sastoji od jednostavnog prebrojavanja učenika od prvog do osmog razreda uključujući po tri razredna odjeljenja svake generacije (a, b i c razred). Nasljedno svojstvo boje očiju istraženo je kod ukupno 491 učenika.



2. Metoda ocjene učestalosti uporabljena je za istraživanje učestalosti navedenih svojstva učenika u odnosu na ukupan broj učenika naše škole. Rezultati ove metode bit će prikazani kao relativna frekvencija.

REZULTATI

Tablični prikaz dobivenih podataka

Istraživački uzorak čine 264 učenika i učenica 5. - 8. razreda, te 227 učenika i učenica 1. - 4. razreda I. osnovne škole Varaždin. Tijekom istraživanja pratili smo pojavu i učestalost boje očiju učenika: smeđe oči, zelene oči, plave oči.

Cilj istraživanja bio je istražiti učestalost pojavljivanja pojedine boje očiju kod učenika osnovnoškolskog uzrasta. Dobiveni rezultati prikazani su tablično, grupno za učenike 1. - 4. razreda te za učenike 5. - 8. razreda (tablica 1., 2., i 3.). U tablici 1. prikazan je broj istraženih učenika 1. - 4. te 5. - 8. razreda naše škole i zastupljenost smeđe, zelene i plave boje očiju kod njih.

Tablica 1 Prikaz učestalosti pojave pojedinih boja očiju kod učenika nižih (1.a - 4.c) i viših razreda (5.a - 8.c)

Boja očiju	Razred	
	1.a - 4.c	5.a - 8.c
Smeđa	121	125
Zelena	75	75
Plava	31	64
Ukupno učenika	227	264

U tablicama 2. i 3. prikazana je zastupljenost pojedine boje očiju po razrednim odjeljenjima.

Tablica 2 Prikaz učestalosti pojave pojedinih boja očiju kod učenika 1.a - 4.c razreda

Boja očiju	Razred											
	1.a	1.b	1.c	2.a	2.b	2.c	3.a	3.b	3.c	4.a	4.b	4.c
Smeđa	12	12	10	8	11	13	11	11	10	7	8	8
Zelena	7	6	4	7	6	7	7	6	8	7	6	4
Plava	0	4	4	5	4	1	5	1	2	0	2	3
Ukupno	19	22	18	20	21	21	23	18	20	14	16	15



Tablica 3 Prikaz učestalosti pojave pojedinih boja očiju kod učenika 5.a - 8.c razreda

Boja očiju	Razred											
	5.a	5.b	5.c	6.a	6.b	6.c	7.a	7.b	7.c	8.a	8.b	8.c
Smeđa	13	8	8	13	9	10	8	10	10	12	12	12
Zelena	3	6	5	6	6	7	9	4	11	8	5	5
Plava	6	5	7	2	6	7	4	5	4	4	8	6
Ukupno	22	19	20	21	21	24	21	19	25	24	25	23

Rezultati izraženi kao apsolutna i relativna frekvencija

Rezultati provedenog istraživanja u niže navedenoj tablici (tablica 4) prikazani su kao apsolutna i relativna frekvencija. Za razumijevanje ovih rezultata dobivenih drugom korištenom metodom, metodom ocjene učestalosti, potrebno je razumjeti značenje termina apsolutna i relativna frekvencija. Apsolutna frekvencija je broj statističkih jedinica dobiven nakon obavljene faze statističkog promatranja i grupiranja jedinica prema odabranom obilježju, u ovom slučaju prema boji oči učenika. S druge strane, relativna frekvencija danog obilježja računa se dijeljenjem frekvencije tog obilježja sa zbrojem vrijednosti. Pomnožimo li spomenuti omjer sa 100, dobit ćemo postotnu relativnu frekvenciju.

Koristeći navedenu metodu, preko apsolutne i relativne frekvencije prikazana je učestalost pojedine boje oči u osnovnoškolaca od prvog do osmog razreda (tablica 4).

Iz tablice 4 vidljivo je da najveći broj istraženih učenika 1. - 4. te 5. - 8. razreda naše škole ima smeđu boju očiju, a najmanji broj učenika ima plavu boju očiju.

Tablica 4 Prikaz učestalosti pojedine boje očiju u razrednim odjeljenjima 1. - 8. razreda izražen kao apsolutna i relativna frekvencija

Boja očiju	Frekvencija po razredima		Postotna relativna frekvencija	
	1.a - 4.c	5.a - 8.c	1.a - 4.c	5.a - 8.c
Smeđa	121	125	53.30%	47.35%
Zelena	75	75	33.04%	28.41%
Plava	31	64	13.66%	24.24%

„Kakve su boje oči učenika naše škole?“

Koristeći dobivene rezultate koji su prethodno tablično prikazani (tablice 1 - 3), odgovor na postavljeno pitanje na početku radnje „Kakve su boje oči učenika naše škole?“ možemo iskazati u postotku izraženom u odnosu na sve ispitane učenike I. osnovne škole Varaždin (tablica 5).



U tablici 5 prikazan je ukupan postotak pojavnosti pojedine boje očiju na svim ispitanim učenicima naše škole.

Tablica 5 Prikaz ukupne pojavnosti pojedine boje očiju izražene u odnosu na sve ispitanike, polaznike 1. - 8. razreda

Boja očiju	Ukupan postotak pojavnosti pojedine boje
Smeđa	50.10 %
Zelena	30.55 %
Plava	19.35 %

RASPRAVA

Osvrt na rezultate

Vrijednosti koje su dobivene istraživanjem, potvrđuju nam oba dijela hipoteze postavljene na početku istraživanja. Kako smo i pretpostavili, najviše učenika I. osnovne škole Varaždin ima smeđu boju očiju. Gledamo li rezultate u cjelini ili pak za svako pojedinačno razredno odjeljenje, može se uočiti da u svim slučajevima prevladava upravo smeđa boja očiju. Dobiveni se rezultati u potpunosti poklapaju s preostalim rezultatima koji se mogu pronaći u literaturi. Kako se i navodi, upravo je smeđa boja očiju najčešća te više od 55% svjetske populacije ima ovu boju očiju (Anonymus EyeColorGuide 2015).

U ovom je istraživanju od ukupnog broja ispitanih osnovnoškolaca, njih 50.10 %, imalo smeđu boju očiju što je otprilike ekvivalentno podacima za svjetsku razinu (Tot 2015).

Tumačenje rezultata postojećim spoznajama

Dobivene rezultate možemo protumačiti uz pomoć već poznatih teorija. Već je ranije spomenuto da postoje tri poznata gena koja određuju boju očiju u čovjeka (Guttery 2015). Dva para gena smještena su na 15., dok je jedan par smješten na 19. kromosomu. Gen *bey2*, smješten na 15. kromosomu, dolazi u alelnim formama za plavu i smeđu boju. Drugi gen lociran na 19. kromosomu (*gen gey*) dolazi u alelnim formama za plavu i zelenu boju. Treći gen *bey1*, lociran na 15. kromosomu, centralni je gen za smeđu boju očiju. Genima *gey* i *bey2* mogli bismo objasniti fenotipsko izražavanje boje očiju. Naime, u genu *bey2*, alel za smeđu boju jest uvijek dominantan nad plavim alelom. U genu *gey*, alel za zelenu boju je uvijek dominantan nad alelom za plavu boju očiju, ali je recesivan u odnosu na alel za smeđu boju koji se nalazi na 15. kromosomu. Iz svega navedenog, jasno se može zaključiti da će plava boja očiju biti prisutna samo u slučaju kada su sva 4 alela za plavu boju, budući da je plava boja očiju recesivno svojstvo i kao takvo ne može doći do izražaja ukoliko je prisutan alel za neko dominantnije svojstvo. Istovremeno, zeleni fenotip očiju nastaje ukoliko je prisutan alel za zelenu boju, koji će biti dominantan nad alelom za plavu boju, ali ne postoji alel za smeđu boju očiju.

Utjecaj melanina na boju očiju

Bitno je naglasiti da ranije navedeni čimbenici nisu jedini koji utječu na ekspresiju boje oči. Kako je navedeno u ranijim odjeljcima, u ekspresiji pojedine boje očiju bitnu ulogu igra i količina melanina.



Melanin, kao specifičan pigment odgovoran između ostalog i za boju očiju određen je dvama genima (Bohaček 2015). Nažalost, tu teoriju o utjecaju gena OCA2 i HERC2 koji se nalaze na 15. kromosomu i utječu na sintezu melanina te posljedično i na boju očiju, ne možemo direktno provjeriti ovim istraživanjem. Melanin se inače odlaže na prednjoj površini šarenice. Ukoliko je puno melanina prisutno, oči će izgledati smeđe ili čak crno. Suprotno tome, ukoliko je vrlo malo melanina, oči će biti plave. Neke srednje količine melanina koje se nalaze između ovih krajnosti dat će oči sive, zelene ili različite nijanse smeđe boje. Bitno je spomenuti da je upravo polimorfizam HERC2 gena u najvećoj mjeri odgovoran za plavu boju očiju europske populacije (Anonymus EyeColorGuide 2015).

Mogući razlozi odstupanja od do sada objavljenih rezultata

Do odstupanja u rezultatima može doći i zbog različitih procesa koji uzrokuju višebojnost očiju. Među njima je bitno navesti heterokromiju (Dahl 2015). Heterokromija je pojava različitosti u obojenosti očiju zavisna o količini melanina, bilo da se radi o potpuno različitim bojama oba oka (potpuna heterokromija) ili pak o višebojnosti jednog oka (parcijalna heterokromija). Iako potpuna heterokromija nije česta, parcijalna heterokromija je nešto što bi zaista moglo poremetiti istraživanja poput ovoga. Stoga je potrebno naglasiti da svi navedeni faktori koji utječu na ekspresiju pojedinog fenotipa boje očiju, a nisu mjerljivi u ovom istraživanju, mogu dovesti do odstupanja od objavljenih rezultata.

ZAKLJUČCI

Kako bismo utvrdili učestalost pojave dominantnih svojstava (smeđe i zelene boje očiju), kao i onih recesivnih (plava boja očiju) te provjerili u kakvom su međusobnom odnosu te učestalosti, provedeno je istraživanje na uzorku osnovnoškolske populacije. Dobivenim rezultatima potvrdili smo već poznate spoznaje o dominantnosti alela za smeđu boju očiju nad alelima za plavu i zelenu boju. Modelom u kojem se koriste gey i bey2 geni odgovorni za ekspresiju pojedine boje očiju, rastumačeno je na koji način i u kojim slučajevima dolazi do fenotipskog izražaja pojedine boje očiju. U tome definitivno značajnu ulogu odigravaju dominantna svojstva alela za smeđu boju. Budući da je plava boja očiju recesivno svojstvo, kao takva se najrjeđe pojavljuje i to isključivo u slučaju kada su svi aleli upravo za plavu boju. Zelena boja očiju učestalija je od plave, ali manje učestala od smeđe. Time je zapravo dokazano da je odnos dominantnih i recesivnih svojstva moguće primijeniti i u istraživanju boje očiju. Ukoliko je prisutan alel za svojstvo koje je dominantnije nad drugim, u svim će slučajevima doći do fenotipskog izražaja dominantnijeg svojstva. Primijenjeno u ovom istraživanju, postojanje alela za smeđu boju uvijek će rezultirati ekspresijom smeđe boje očiju budući da je taj alel dominantan spram alela za zelenu i plavu boju. Upravo zato, najveći broj ispitanih osnovnoškolaca ima smeđu boju očiju baš kako je pretpostavljeno u hipotezi na početku istraživanja. No u ovom slučaju, smeđu, zelenu i plavu boju promatramo kao čiste boje. Naravno, kako je već navedeno, boja očiju je svojstvo na koje utječu brojni čimbenici pa osim takozvanih čistih boja, postoje i sive, jantarne, oči boje lješnjaka ili pak oči ljubičaste boje. Veliki značaj za boju očiju ima i melanin, pigment koji se odlaže u šarenici. Ovisno o njegovoj količini, oči će biti drugačije boje. Što je više melanina prisutno, oči će biti tamnije. Njegovom sintezom upravljaju dva gena locirana na 15. kromosomu, geni OCA2 i HERC2 čiji polimorfizam također dovodi do različitih boja očiju.



U priči o melaninu bitno je spomenuti da različito odlaganje melanina uzrokuje pojavu različite obojenosti očiju, tzv. heterokromiju koja može dovesti do odstupanja od rezultata, baš kao i svi ostali, u ovom istraživanju, nemjerljivi faktori. Dakle, ovisno o svim ranije nabrojenim faktorima (geni gey, bey1, bey2, OCA2 i HERC2...) postoji cijeli spektar različitih boja očiju.

Ono što je zasigurno točno, a potvrđeno je i ovim istraživanjem, jest činjenica da je frekvencija učestalosti smeđe boje očiju najveća (50.10 % naših učenika ima smeđu boju očiju).

LITERATURA

- Dahl A. A. 2015. Heterochromia Iridis. MedicineNet. http://www.medicinenet.com/heterochromia_iridis/page2.htm, pristupljeno 11.3.2015.
- Anonymus 2015. EyeColorGuide - The Most Common Eye Colors. <http://www.aclens.com/Most-Common-Eye-Color-c323.html>, pristupljeno 11.3.2015.
- Bastić M., Novoselić D., Popović M. 2009. Roditelji i potomci, U Novoselić D. (ur.), Biologija 8. Alfa, Zagreb, str. 8-18.
- Bendelja D., Culjak Đ., Lukša Ž., Operta E., Orešković E., Roščak R. 2014. Nasljeđivanje, U Bendelja D. (ur.), Biologija 8. Školska knjiga, Zagreb, str. 9-27.
- Bohaček B. 2015. Odgovori na postavljena pitanja – Biologija. <http://eskola.biol.pmf.unizg.hr/odgovori/odgovor223.htm>, pristupljeno 11.3.2015.
- Guttery L. C. 2015. The Genetics of Eye Color. http://static.sewanee.edu/chem/chem%26art/Detail_Pages/ColorProjects_2003/Guttery/index.htm, pristupljeno 11.3.2015.
- Tot A. 2015. Kako oči dobivaju svoju boju? <http://znanost.geek.hr/clanak/kako-oci-dobivaju-svoju-boju/>, pristupljeno 11.3.2015.

BUDI SVOJ – POŠTUJ DRUGE

Marta Jedrejčić, 8. r

Veronika Lanča, 8. r

OŠ Vladimira Nazora, Pazin

Mentor: Maja Curić

SAŽETAK

Ovim istraživačkim radom htjele smo usporediti uspješnost muškog i ženskog spola od 5. do 8. razreda u multitaskingu, preciznosti, hrabrosti, izdržljivosti, brzini, izgovaranju jezikolomaca te smo usporedili sudjelovanje dječaka i djevojčica naše škole na županijskim i državnim natjecanjima u proteklih 5 godina. Pretpostavile smo da će dječaci biti hrabriji, brži, precizniji, dok će djevojčice biti bolje u multitaskingu, izdržljivije te da će više sudjelovati na natjecanjima. Kroz razne ankete i praktične zadatke došle smo do rezultata da su dječaci izdržljiviji, hrabriji i precizniji, a djevojčice bolje u multitaskingu te da mogu izgovoriti više jezikolomaca. Sve naše pretpostavke se nisu ostvarile.

Ključne riječi: *multitasking, hrabrost, izdržljivost, brzina, preciznost, izgovaranje jezikolomaca, uspješnost na natjecanjima*

UVOD

21. stoljeće – doba kada djevojčice dječake vrijeđaju pridjevom „kao curica“, i mnogo će ljudi preletjeti preko tih riječi smatrajući ih potpuno normalnima. Međutim, mi ćemo malo zastati i promisliti o tim riječima. U današnjem svijetu djeca su odgajana tako da poznaju ravnopravnost spolova, tako da znaju da je „kao curica“ isto kao i „kao dečko“, ali čini se da će se riječi „kao curica“ iz naših usta više sipati uz želju da nekoga uvrijedimo.

Čini se da ljudi vjeruju u stereotipe gdje su djevojčice sitne i prestrašene, a dječaci hrabri i samopouzdana. Ljudi ne vjeruju u to da i djevojčice mogu biti hrabre i samopouzdana te da se i dječaci mogu osjećati sitno i nesigurno. Čini se da sve manje naših vršnjaka pokazuje sebe te da nosi maske koje im je iskovalo društvo. Ali mi želimo živjeti u drugačijem svijetu, u svijetu međusobnog poštivanja i prihvaćanja, gdje će pojedinci moći malim promjenama izazvati one velike, gdje će se ljudski osmijeh cijeniti više od materijalne moći, gdje će svatko biti onaj tko želi biti, bez straha da će biti osuđivan od strane društva. Želimo da ovaj rad bude tek jedna mala promjena u društvu na putu prema svijetu gdje će svi ljudi biti svoji i poštivati druge. Želimo dokazati da je i „kao curica“ jednako kao i „kao dečko“, jer naravno, razlike među dječacima i djevojčicama postoje, ali to ne znači da su dječaci bolji od djevojčica, odnosno, djevojčice bolje od dječaka, i da se nečije ime može koristiti kao uvreda. Cijelo ovo istraživanje provele smo kroz ankete i razne praktične zadatke te smo došle do razlika između djevojčica i dječaka. Dobile smo rezultate kojima želimo dokazati da su oba spola dobra u nečemu i da te razlike trebamo uvažavati i poštivati.

Obrazloženje teme

Emma Watson održala je govor u kojem objašnjava: „Kada sam imala 8 godina, rekli su mi da ne izigravam šeficu jer sam željela organizirati školsku predstavu za roditelje; s 14 godina mediji su me počeli seksualizirati, a s 15 godina moje frendice počele su odustajati od svojih omiljenih sportova jer nisu željele biti „premišćave i muškobanjaste“. S 18 godina shvatila sam da neki od muških frendova ne žele pokazati svoje prave osjećaje jer to nije „muževno“ - u tom trenutku shvatila sam da svijetu



treba promjena. Došlo je vrijeme da prestanemo rod promatrati kao dva različita ideala- svi se moramo zajedno boriti za svoja prava.“

Često na hodnicima škole naši vršnjaci vrijeđaju jedni druge govoreći da rade stvari kao curice, time ističući da su u nečemu slabiji. Potaknute govorom koji je Emma Watson održala u UN-u, odlučile smo istražiti jesu li dječaci zaista u svemu spretniji od djevojčica.

Prijašnja istraživanja upućuju na to da su žene u prosjeku bolje u verbalnoj fluentnosti, perceptivnoj brzini i točnosti te prepoznavanju lica, a muškarci su, za razliku od žena, u prosjeku bolji u prostornim rotacijama, u zadacima mentalne rotacije, gađanja i praćenja mete te u matematičkom rezoniranju. Vjeruje se da su žene bolje u verbalnim, a muškarci u numeričkim sposobnostima te se govori da su žene snalažljivije i kreativnije u raznim situacijama (Šimić i Gregov 2009.).

Ovim istraživanjem pokušat ćemo utvrditi u čemu su uistinu bolji dječaci, a u čemu djevojčice naše škole. Provest ćemo anketu kod roditelja i djece, zatim ćemo u praktičnom dijelu provesti testove hrabrosti, izdržljivosti, koordinacije i preciznosti, multitaskinga i jezičnih sposobnosti te ćemo usporediti uspjeh s natjecanja. Anketu ćemo provesti kod roditelja koja imaju mušku i žensku djecu. Time želimo saznati jesu li prije prohodale djevojčice ili dječaci, tko je prvi progovorio, tko je aktivniji, društveniji i slično. Učenici naše škole također će ispunjavati anketu kojom ćemo utvrditi bave li se sportom, misle li da su hrabri i što za njih znači „biti kao curica“. Time ćemo utvrditi bave li se uistinu dječaci više sportom, te jesu li uistinu u tome i uspješniji. Rezultate ankete ćemo usporediti s uspjesima koje su učenici i učenice naše škole postigli u proteklih 5 godina na županijskim i državnim natjecanjima. Utvrdit ćemo u kojim su predmetima uspješnije curice. U praktičnom dijelu provest ćemo testove hrabrosti, izdržljivosti, koordinacije i preciznosti, multitaskinga i jezičnih sposobnosti te ćemo usporediti uspjeh s natjecanja (tablica 1).

Tablica 1 Prikaz pretpostavki istraživanja

Istraživanje	Pretpostavka:
1. Anketa	Djevojčice će imati niže mišljenje o sebi (da nisu hrabre itd.), da će biti više prestrašene tijekom usmenog ispitivanja, a dječaci će za sebe misliti da su hrabri itd.
2. Multitasking	Djevojčice će biti uspješnije u multitaskingu jer sva dosadašnja istraživanja kažu da žene, za razliku od muškaraca, mogu pratiti više radnji istovremeno.
3. Izdržljivost	Djevojčice će izdržati dulje od dječaka jer po našem mišljenju djevojčice bolje podnose bol.
4. Test hrabrosti	Dječaci će bili hrabriji te će tako imati više samopouzdanja i vjerojatno neće htjeti pokazati strah pred djevojčicama.
5. Koordinacija i preciznost	Dječaci će biti bolji u ovom djelu istraživanja jer prijašnja istraživanja upućuju na to da dječaci imaju razvijenije motoričke sposobnosti, te da su bolji u zadacima gađanja i praćenja mete.
6. „Jezikolomci“	Djevojčice su, kako je dokazano prijašnjim istraživanjima, bolje u verbalnoj fluentnosti i zato mi mislimo da će i ovdje djevojčice biti uspješnije.
7. Sudjelovanje na natjecanjima	Usporedit ćemo broj sudjelovanja djevojčica odnosno dječaka naše škole u proteklih 5 godina na županijskim i državnim natjecanjima. Utvrdit ćemo na kojim su natjecanjima više sudjelovale djevojčice, a u kojima dječaci.



Cilj ovog istraživanja nije odrediti tko je spretniji, izdržljiviji ili bolji, već dokazati da smo svi dobri u nečemu i da bi trebali biti ponosni na to tko smo. Ovim radom želimo potaknuti mlade da prepoznaju svoje vrijednosti, izraze svoje osjećaje i prihvate sebe te da poštuju vlastito mišljenje i, kako je rekla Emma Watson, prestanu rod promatrati kao dva različita ideala i da se zajedno bore za svoja prava.

UZORAK I METODE RADA

Ovo istraživanje započeto je u listopadu 2014. U njemu je sudjelovalo 26 učenica i 19 učenika naše škole koji su odabrani metodom slučajnog odabira (tablica 2).

Tablica 2 Prikaz broja sudionika po razredima

	Dječaci	Djevojčice
5. razred	3	7
6. razred	6	6
7. razred	4	7
8. razred	6	6
Ukupno	19	26

Anketa

Najprije su ispitanici od 5. do 8. razreda pisali anketu kojom smo željeli saznati njihova mišljenja o izrazu „biti kao curica“ te provjeriti koje je njihovo mišljenje o sebi samima, misle li da su hrabri, kako se osjećaju tijekom usmenog ispitivanja i slično. Učenici su se zatim izjasnili žele li sudjelovati u daljnjem istraživanju odnosno u praktičnom dijelu. Rezultate smo statistički obradili, napravili grafičke prikaze, izračunale aritmetičke sredine kao i minimalne i maksimalne vrijednosti za pojedine grupe. Roditelji učenika koji su sudjelovali u istraživanju zamoljeni su da odgovora na anketna pitanja vezana uz razvoj govora, hod, samostalnost, tjelesnu aktivnost, čitanje i učenje, društvenost i snalažljivost svoga djeteta.

Multitasking

Ovim dijelom istraživanja željeli smo saznati mogu li dječaci ili djevojčice pratiti više radnji istovremeno. Ispitanici (učenici od 5. do 8. razred) su slagali puzzle dok smo u pozadini puštali glazbu (5 ljetnih hitova) te vodili razgovor s kolegom iz razreda. Ispitanici su na početku dobili uputu da što prije slože puzzle. Izmjerili smo vrijeme koje im je trebalo da slože puzzle od 60 komada te su kasnije rješavali anketu kojom smo provjerili što su zapamtili odnosno koje pjesme smo puštali i o čemu smo pričali.

Anketom smo ispitali što su sve ispitanici zapamtili iz našeg razgovora s prijateljem iz razreda (ime prijatelja, boju njegove majice, što nam je rekao), te broj zapamćenih pjesama koje smo puštali u pozadini. Rezultate smo statistički obradile, napravile grafičke prikaze, izračunale aritmetičke sredine kao i minimalne i maksimalne vrijednosti za pojedine grupe.

Izdržljivost

U trećem dijelu istraživanja, provodili smo test izdržljivosti. U plastičnu posudu s vodom i ledom, čija je temperatura bila 0 °C, ispitanici su držali ruku do prve pojave boli. Štopali smo im vrijeme da usporedimo rezultate dječaka i djevojčica, izračunali smo prosjek vremena za dječake i djevojčice istih dobnih skupina te minimalnu i maksimalnu vrijednost. **Napomena: svi ispitanici su dobrovoljno pristali na ovaj dio istraživanja te ni na koji način nisu bili prisiljeni sudjelovati.**



Test hrabrosti

Također, odlučili smo testirati njihovu hrabrost tako što su mogli staviti ruku u prozirnu kutiju s paukom, koji je bio plastičan (ispitanici to nisu vidjeli), ili u crnu kutiju u kojoj nisu znali što se nalazi (u kutiji nije bilo ništa). **Napomena: svi ispitanici si dobrovoljno pristali na ovaj dio istraživanja te ni na koji način nisu bili prisiljeni sudjelovati.** Izračunat ćemo postotak učenika i učenica koji su stavili ruku u posudu s paukom, crnu kutiju ili u niti jednu kutiju.

Koordinacija i preciznost

Ispitanici su u ovom dijelu istraživanja dobili zadatak da prođu poligon koji se sastojao od raznih okreta i na kraju pucanja na koš, a koji im je ranije pokazao učitelj tjelesne i zdravstvene kulture. Tri puta smo svakom ispitaniku izmjerili vrijeme i izračunali srednju vrijednost te pratili njihovu preciznost u pucanju na koš. Također smo pratili koliko su bili precizni pri izvedbi vježbi na poligonu.

Jezikolomci

Ovim dijelom istraživanja ispitali smo jezične sposobnosti dječaka i djevojčica tako što su morali „u jednom dahu“, što više puta ponoviti, prije nego što se spetljaju, izgovarati jednu od naših najpoznatijih jezikolomki - *petar petru plete petlju*. Najprije smo zbrojili rezultate za djevojčice i dječake istih dobni skupina te njihov prosjek i prosjek za sve djevojčice i dječake zajedno.

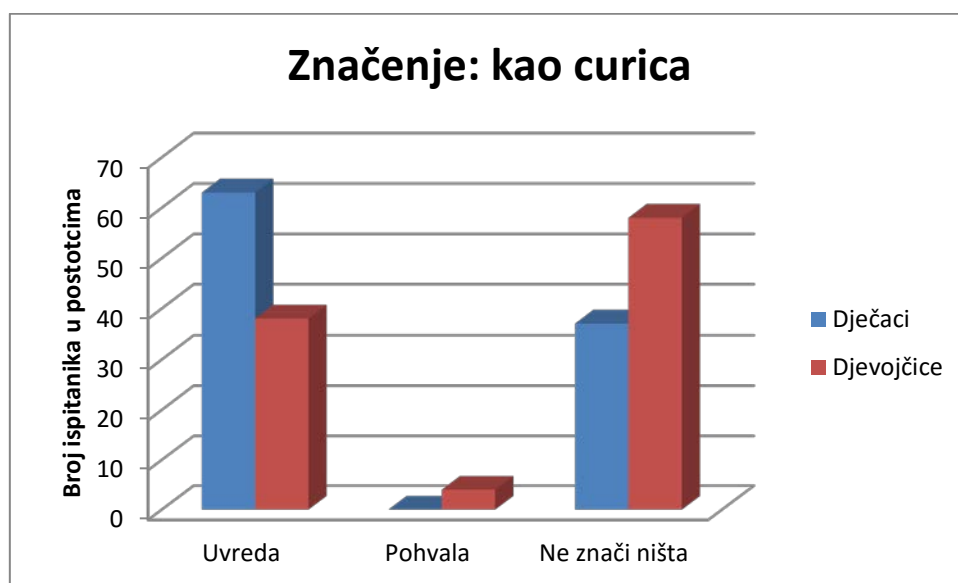
Sudjelovanje na natjecanjima

Uspoređivali smo i sudjelovanja na županijskim i državnim natjecanjima u posljednjih pet godina. Izračunali smo broj sudionika tako da smo vidjeli koliko puta su djevojčice, a koliko puta dječaci sudjelovali na županijskim odnosno državnim natjecanjima različitih predmeta.

Ideja za ovaj dio istraživanja proizašla je iz izjave jednog učitelja kojom je rekao da su, koliko se on sjeća, djevojčice uvijek postizale bolje rezultate tako da će naša pretpostavka biti sukladna njegovoj – pretpostavljamo da će djevojčice ovdje biti uspješnije od dječaka.

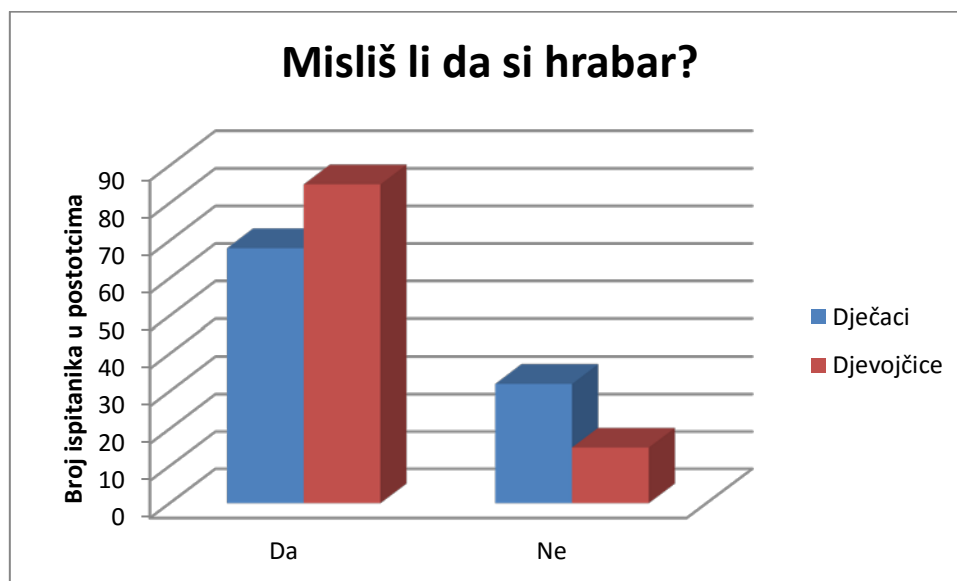
REZULTATI

Većini djevojčica pojam „kao curica“ ne znači ništa, a većini dječaka pojam znači uvreda (slika 1).



Slika 1 Grafički prikaz mišljenja učenika na pojam „kao curica“

Na grafičkom prikazu (slika 2) možemo vidjeti da većina učenika za sebe misle da su hrabri.



Slika 2 Grafički prikaz broja učenika koji za sebe misle da su, odnosno nisu, hrabri

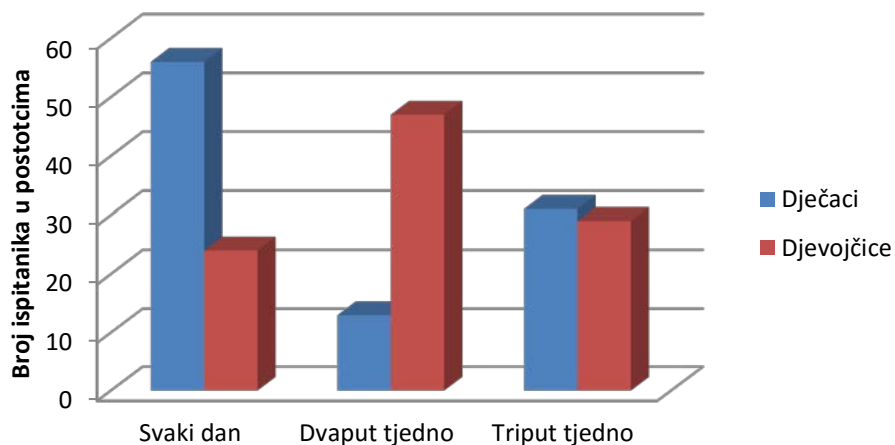
Na grafičkom prikazu možemo vidjeti da se većina učenika bavi nekom sportskom aktivnošću (slika 3).



Slika 3 Grafički prikaz broja ispitanika koji se bave fizičkim aktivnostima

Slika 4 prikazuje učestalost treniranja, možemo vidjeti da većina dječaka trenira svaki dan, dok djevojčice većinom treniraju svaki drugi dan.

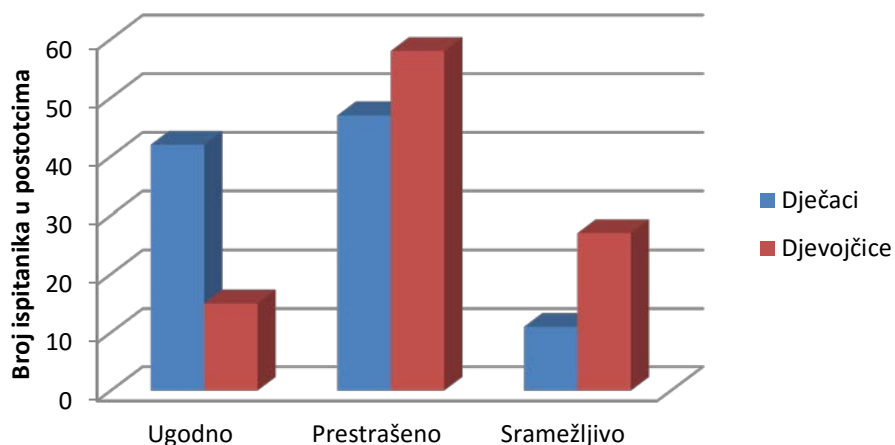
Učestalost treniranja



Slika 4 Grafički prikaz učestalosti treniranja

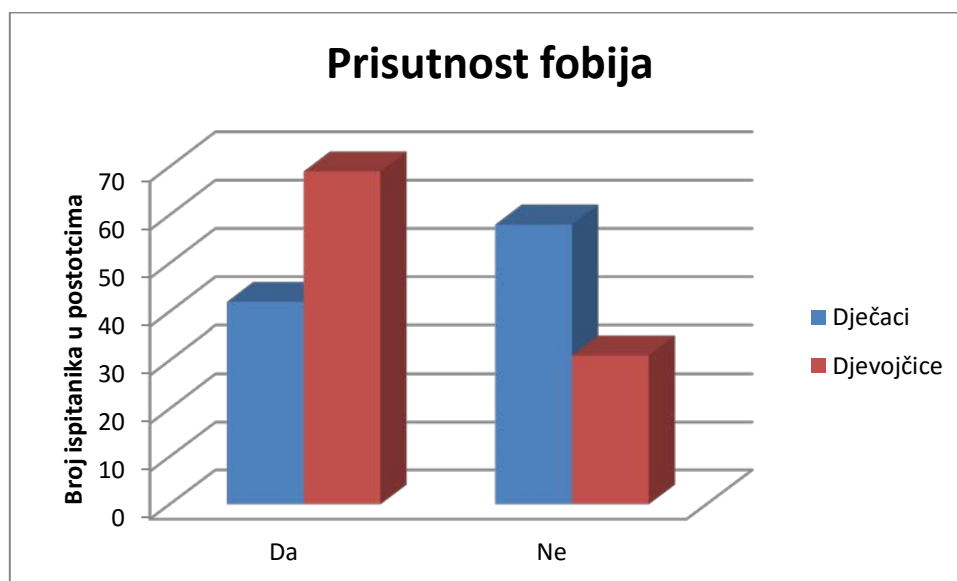
Tijekom usmenog ispitivanja (slika 5) djevojčice i dječaci se većinom osjećaju prestrašeno.

Osjećaji tijekom ispitivanja



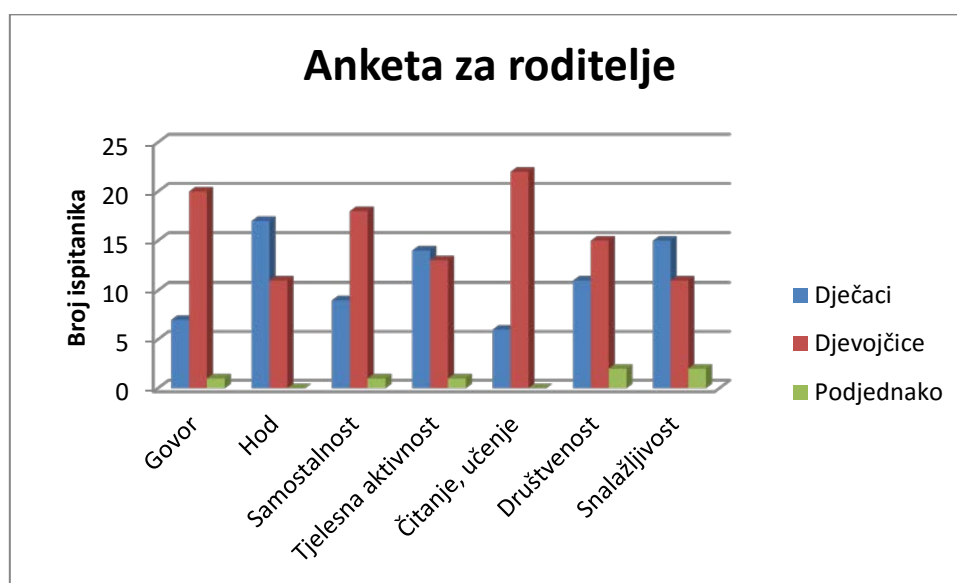
Slika 5 Grafički prikaz osjećaja tijekom ispitivanja

Na ovom grafičkom prikazu (slika 6) možemo vidjeti da su fobije više prisutne u djevojčica.



Slika 6 Grafički prikaz broja ispitanika koji imaju, odnosno nemaju fobije

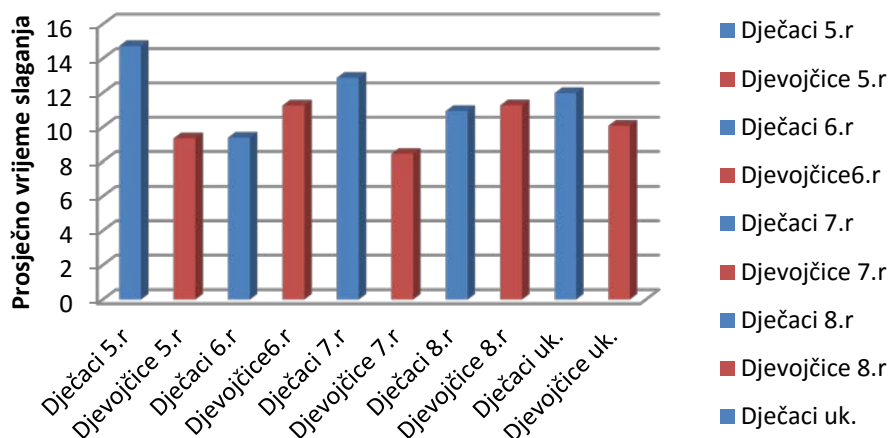
Iz ovog grafičkog prikaza (slika 7) je vidljivo da su djevojčice samostalnije, u prosjeku prije progovore od dječaka, te pokazuju veći interes za čitanje i učenje. Dječaci pokazuju veći interes za tjelesnu aktivnost i u prosjeku prije prohodaju.



Slika 7 Grafički prikaz anketa za roditelje koji imaju mušku i žensku djecu

Na ovom grafičkom prikazu možemo vidjeti (slika 8) da je djevojčicama, u odnosu na dječake, potrebno manje vremena za složiti puzzle.

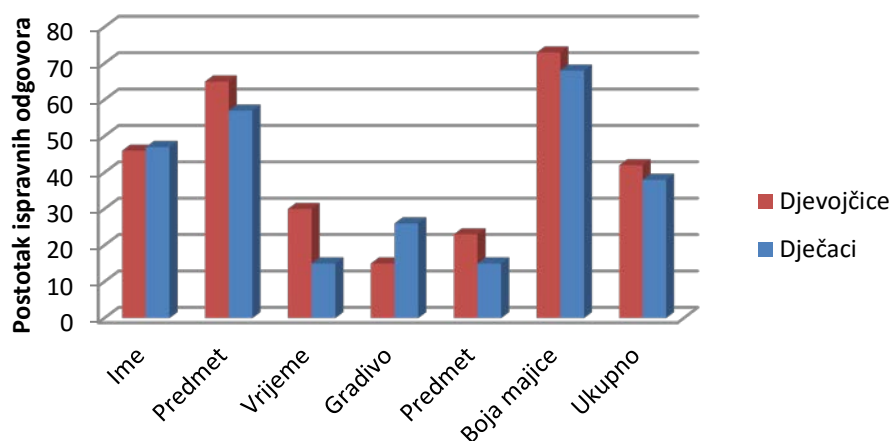
Puzle



Slika 8 Grafički prikaz brzine slaganja puzzli

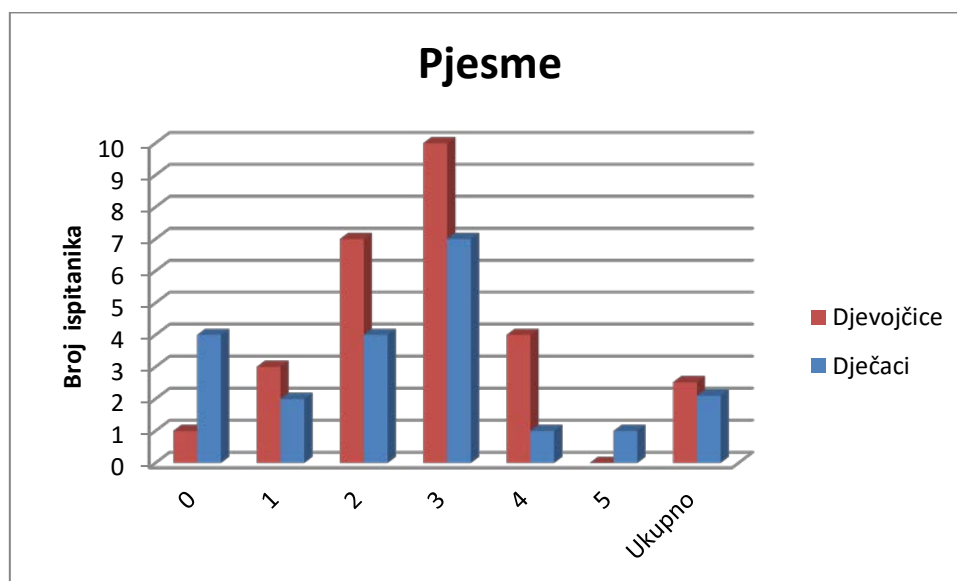
Iz ovog grafičkog prikaza je vidljivo da su djevojčice većinom bolje riješile anketu, te u prosjeku pamte više detalja od dječaka (slika 9).

Multitasking - anketa



Slika 9 Grafički prikaz riješenosti ankete multitaskinga

Djevojčice većinom zapamtile više pjesama (slika 10).



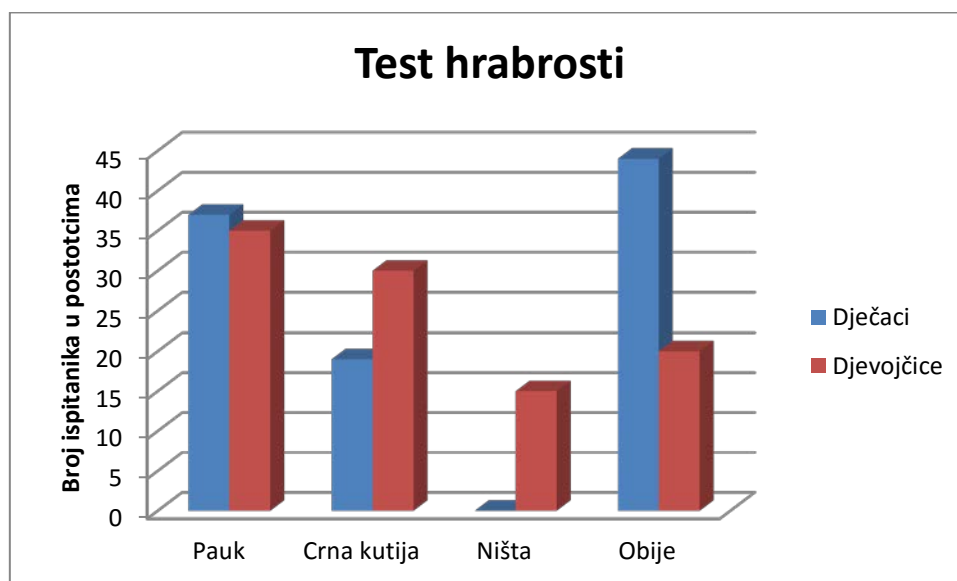
Slika 10 Grafički prikaz zapamćenih pjesama

Iz grafičkog prikaza (slika 11) možemo vidjeti da su dječaci većinom izdržljivi.



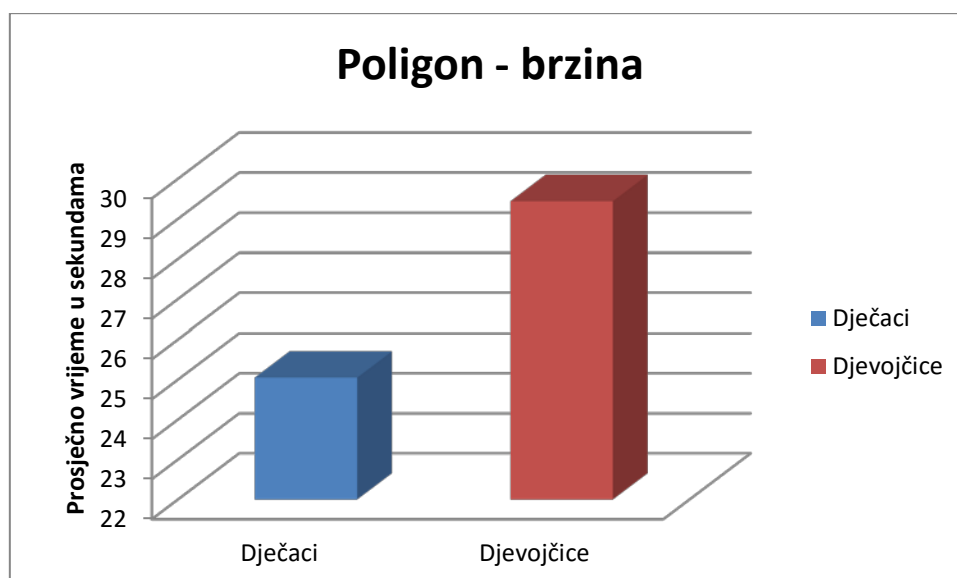
Slika 11 Grafički prikaz prosječnog vremena izdržljivost u minutama

Na grafičkom prikazu testa hrabrosti (slika 12) možemo vidjeti da je većina djevojčica odabrala kutiju s paukom, a većina dječaka obje kutije, dok su 3 djevojčice odbile izazov.



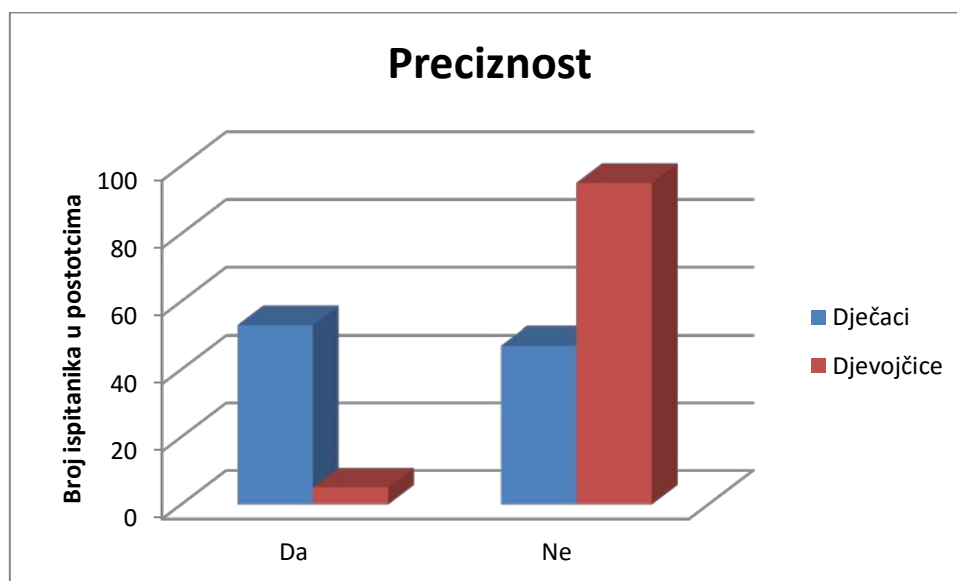
Slika 12 Grafički prikaz testa hrabrosti

Iz grafičkog prikaza je vidljivo da su dječaci prosječno brži u prolazanju poligona (slika 13). Poligon su uspješno prošli svi dječaci (100%) i 18 djevojčica (90%).



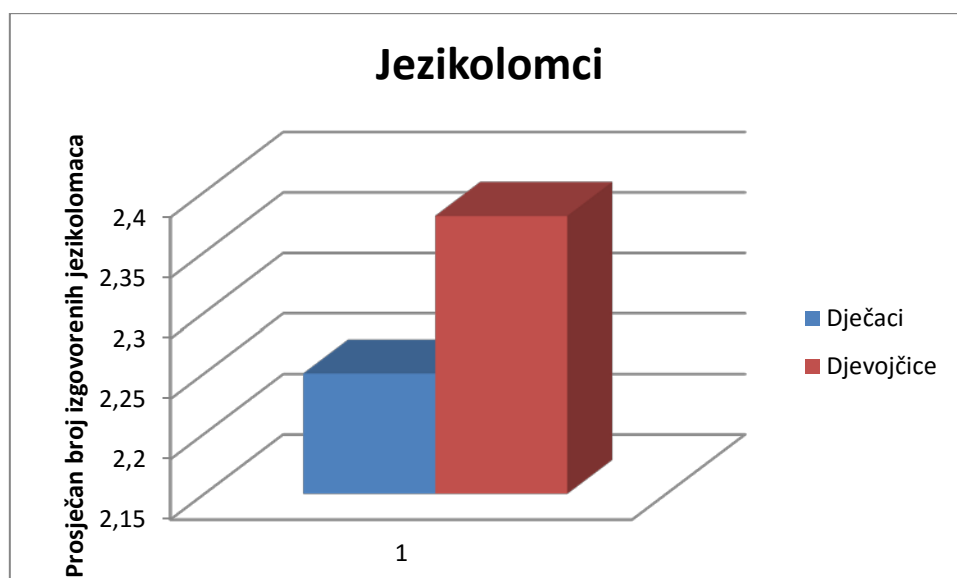
Slika 13 Grafički prikaz brzine izvršavanja poligona

Dječaci su u prosjeku precizniji od djevojčica, tek je jedna djevojčica od 19 bila uspješna u pogađanju koša nakon izvršenog poligona (slika 14).



Slika 14 Grafički prikaz preciznosti ispitanika

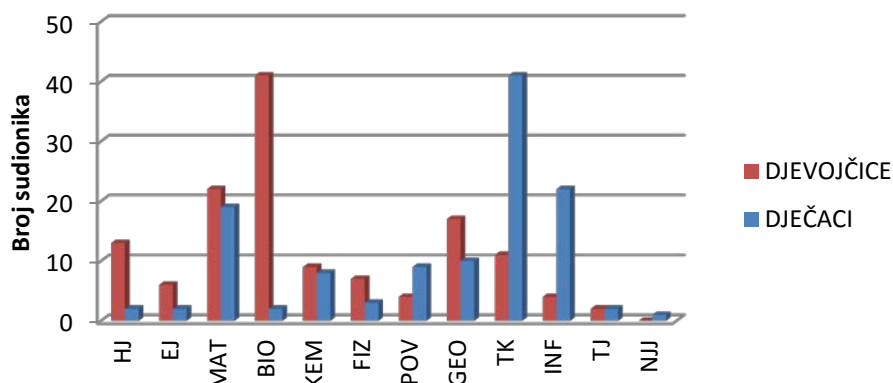
Ovaj grafički prikaz (slika 15) pokazuje kako djevojčice prosječno izgovore više jezikolomaca od dječaka bez da pogriješe.



Slika 15 Grafički prikaz prosječnog broja izgovorenih jezikolomaca

Djevojčice više sudjeluju na natjecanjima (slika 16).

Sudjelovanje na županijskim natjecanjima

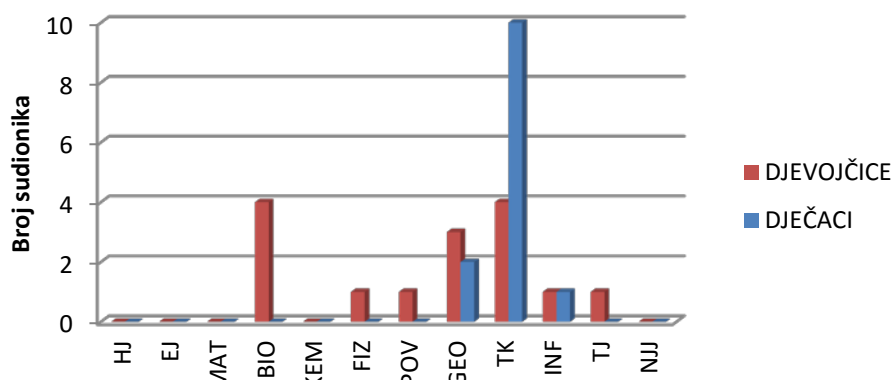


Slika 16 Grafički prikaz sudjelovanja na županijskim natjecanjima

Na državnim natjecanjima su djevojčice sudjelovale iz više različitih predmeta (slika 17) dok dječaci potpuno dominiraju u tehničkoj kulturi.

Djevojčice i dječaci podjednako postižu izuzetne rezultate na raznim sportskim natjecanjima na županijskoj i državnoj razini.

Sudjelovanje na državnim natjecanjima



Slika 17 Grafički prikaz sudjelovanja na državnim natjecanjima (HJ – hrvatski jezik, EJ – engleski jezik, MAT – matematika, BIO – biologija, KEM – kemija, FIZ – fizika, POV – povijest, GEO – geografija, TH – tjelesna kultura, INF – informatika, TJ – tjelesni odgoj, NJJ – njemački jezik)



RASPRAVA

Anketa

Svakoj grupi ispitanika najprije smo podijelili ankete u kojima su bila pitanja pomoći kojih smo saznali njihova mišljenja o sebi, o pojmu „kao curica“, njihovim fobijama i njihovim osobinama. Pretpostavljali smo da će djevojčice imati niže mišljenje o sebi te da će biti više prestrašene tijekom usmenog ispitivanja i da će dječaci za sebe misliti da su hrabri itd. Međutim, analizom podataka koje smo prikupili iz anketa, saznali smo da i djevojčice i dječaci za sebe misle da su hrabri, ali najveći broj ispitanika (oba spola) se osjeća prestrašeno tijekom usmenog ispitivanja. Istom smo anketom ispitali koliko često treniraju djevojčice, a koliko dječaci te kojim se sportovima najviše bave. Oba spola se podjednako bave sportom, dok dječaci, koji se najviše bave nogometom, većinom treniraju triput tjedno, a djevojčice, kod kojih je najpopularniji sport odbojka, treniraju dva puta tjedno. Također, saznali smo da su fobije prisutnije kod djevojčica. Najčešće fobije su hemofobija (strah od krvi), akrofobija (strah od visine), arahnofobija (strah od pauka), ofidiofobija (strah od zmija). U anketi su, na jednom od pitanja, ispitanici trebali napisati tri osobine koje ih najbolje opisuju. Djevojčice su za sebe napisale više osobina, a najčešće osobine koje su napisali dječaci i djevojčice su uporan, dobar i zabavan. Anketom, koju smo podijelili roditeljima muškog i ženskog djeteta, saznali smo da su djevojčice prije progovorile, što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima (Andersen i sur. 1979) koja dokazuju da su žene u prosjeku bolje u verbalnoj fluentnosti, perceptivnoj brzini i točnosti, kao i finijoj motorici, dok su muškarci u prosjeku bolji u prostornim i matematičkim sposobnostima (Šimić i Gregov 2009). Također, djevojčice su, prema mišljenju roditelja, samostalnije, društvenije te više zainteresirane za čitanje i učenje. Dječaci su prije prohodali te su snalažljiviji.

Multitasking

Grupama ispitanika najprije je dana uputa da slože puzzle u vremenu od 16,30 minuta. Za vrijeme slaganja puzzlea puštali smo muziku te je u učionicu ušao dječak i rekao nam neke informacije. Nakon 16,30 minuta ispitanicima smo podijelili ankete koje su sadržavale nekoliko pitanja (izgovoreno ime dječaka, boja njegove majice te informacije koje nam je on dao). Pretpostavile smo da će djevojčice biti uspješnije u multitaskingu. Naša pretpostavka se pokazala istinitom jer su prosječno djevojčice zapamtile više pjesama i informacija od dječaka u skladu s zaključcima drugih autora (Anonymus 2015). Također, djevojčice su prosječno puzzle složile u kraćem vremenu od dječaka, što smo najbolje vidjeli kada su djevojčica i dječak, koji su sjedili jedan iza drugoga, slagali istu sliku, a djevojčica je sliku složila oko sedam minuta prije dječaka. Nadalje, jedan je dječak odustao, jer sliku koja je jedna djevojčica već složila, on nikako nije mogao složiti.

Izdržljivost

Naša pretpostavka za ovaj dio istraživanja bila je da će djevojčice biti izdržljivije od dječaka. Međutim, rezultati su pokazali upravo suprotno. Grupi ispitanika dan je izbor za ovaj dio istraživanja. Mogli su sudjelovati ako su to željeli. Ni jedan ispitanik nije odbio sudjelovati u ovom dijelu istraživanja. Ispitanici su trebali staviti ruku u posudu s vodom temperature 0°C te je izvaditi kod pojave boli. Dječaci su prosječno izdržali duže od djevojčica.

Test hrabrosti



Test hrabrosti proveli smo tako da smo ispitanike pozivali da se odluče staviti ruku u jednu od ponuđenih kutija (crna kutija – ne vide što je unutra i prozirna, malo zamagljena kutija u kojoj je bio plastični pauk, ali je izgledao dovoljno realistično da privuče pažnju i da izazove prirodnu reakciju straha) te smo bilježili koliko je djevojčica, a koliko dječaka stavilo ruku u crnu, odnosno, prozirnu kutiju.

Rezultati ovog dijela istraživanja pokazali su da su dječaci hrabriji od djevojčica, što je bilo i pretpostavljeno. Od 20 djevojčica, 3 djevojčice (15 %) nisu prihvatile izazov i nisu stavile ruku u niti jednu kutiju, a od 17 djevojčica, koje su prihvatile izazov, većina je ruku stavila u kutiju s paukom. Naša pretpostavka bila je da će dječaci biti hrabriji, imati više samopouzdanja i neće htjeti pokazati strah pred djevojčicama. Od 16 dječaka, svi su prihvatili izazov, većina dječaka stavila je ruku u obje kutije.

Koordinacija i preciznost

Pretpostavile smo da će dječaci biti bolji u ovom dijelu istraživanja. Ispitali smo koordinaciju i preciznost ispitanika tako da smo postavili poligon koji se sastojao od različitih prepreka te na kraju pucanja na koš. Rezultati su pokazali da su dječaci zaista bolji, brži i spretniji od djevojčica, a to je u skladu s dosadašnjim istraživanjima (Tadinac i Hromatko 2004). Od 18 djevojčica koje su sudjelovale u ovom dijelu istraživanja, dvije nisu uspješno izvršile poligon, a samo je jedna uspjela pogoditi koš.

Jezikolomci

Ispitanici su sudjelovali u dijelu istraživanja čiji je zadatak bio da izgovore jezikolomac *Petar Petru plete petlju* što više puta prije nego naprave pogrešku. Naša pretpostavka bila je da će ovdje djevojčice biti uspješnije. Djevojčice su, kako su pokazali rezultati, prosječno mogle izgovoriti više jezikolomaca i to je u skladu s dosadašnjim istraživanjima da su djevojčice bolje u verbalnom dijelu (Šimić i Gregov 2009). Međutim, u našem istraživanju sudjelovali su brat i sestra različite dobi, te se iz njihovih reakcija dalo zaključiti da im je više stalo da se međusobno pobijede, dakle da jedan ima bolji rezultat od drugoga, nego da imaju bolji rezultat u odnosu na svoje vršnjake.

Uspjeh na natjecanjima

Ovim dijelom istraživanja željele smo usporediti sudjelovanja i uspjehe dječaka i djevojčica naše škole na županijskim i državnim natjecanjima u posljednjih 5 godina. Pretpostavile smo da će djevojčice biti uspješnije u ovom dijelu istraživanja. Analizom podataka iz proteklih pet godina. Uvidjele smo da su djevojčice sudjelovale u više predmeta, gdje su postizale zapažene rezultate (najviše iz biologije, hrvatskog jezika i stranih jezika), što također dokazuje da su djevojčice bolje u verbalnom djelu a to je u skladu s dosadašnjim istraživanjima (Hromatko 2001), dok su dječaci pretežito sudjelovali na natjecanjima iz tehničke kulture, informatike i matematike, gdje su također postigli zapažene rezultate.

ZAKLJUČCI

- „Kao curica“ većini dječaka znači uvredu dok većini djevojčica ne znači ništa.
- Najveći broj dječaka i djevojčica se osjeća prestrašeno tijekom usmenog ispitivanja.
- Djevojčice i dječaci se podjednako bave sportom, ali dječaci većinom treniraju tri puta tjedno, a djevojčice dva puta tjedno.



- Fobije su prisutnije u djevojčica.
- Djevojčice, u odnosu na dječake, za sebe znaju navesti raznolikije osobine.
- Djevojčice slažu puzzle brže nego dječaci.
- Dječaci lakše podnose bol.
- Dječaci su hrabriji od djevojčica i manje pokazuju strah.
- Dječaci su brži i spretniji od djevojčica.
- Djevojčice mogu prosječno izgovoriti više jezikolomaca od dječaka.
- Djevojčice sudjeluju u više natjecanja od dječaka te postižu bolje rezultate.

LITERATURA

- Andersen P.A., Garrison J.P., Andersen J.F. 1979. Implications of a neurophysiological approach for the study of nonverbal communication. *Human Communication Research* 6: 74-89.
- Hromatko I. 2001. Utjecaj estrogena na shvaćanje prostornih odnosa, perceptivnu brzinu i fine motoričke sposobnosti. *Suvremena psihologija* 4: 61-71.
- Šimić N., Gregov Lj. 2009. Spolni hormoni i kognitivno funkcioniranje žena. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*. 60: 363-374.
- Tadinac M., Hromatko I. 2004. Evolucijska psihologija i spolne razlike, U Hrgović J, Polšek D (ur.), *Evolucija društvenosti*. Naklada Jesenski i Turk, Zagreb, str.175-191.
- Anonymus 2015. Zašto žene bolje podnose stres? Zdrava i sretna, zanimljivosti.
<http://www.zdravaisretna.hr/zanimljivosti/za%C5%A1to-%C5%BEene-bolje-podnose-stres>, pristupljeno: 10.2.2015.

KAKO MASTI U VRHNJU I SIRU UTJEČU NA RAZVOJ PLIJESNI I BAKTERIJA

Dora Šokota, 8 r.

Lucija Orlović, 8 r.

OŠ P. Preradovića, Zadar

Mentor: Mirica Brekalo

SAŽETAK

Cilj našeg istraživanja bio je istražiti utjecaj mliječne masti u vrhnju i siru. Mliječna mast je smjesa lipidnih tvari. Glavni dio masti su mliječne kiseline. Mliječna mast utječe na konzistenciju, teksturu, boju i okus. U istraživanju smo koristili kiselo vrhnje (12% m.m.), kiselo vrhnje (25% m.m.), zrnati sir (10% m.m.) te sir (35% m.m.). Svakog proizvoda je izmjereno 20g te ih je osam ostavljeno izvan hladnjaka i osam u hladnjaku. Četiri su bili prekriveni prozirnom folijom u hladnjaku, a četiri su bili prekriveni prozirnom folijom izvan hladnjaka. Uzorci su bili pregledavani svaki dan te se bilježila pojava plijesni. Za svaki uzorak je izračunato koliko je dana trebalo do pojave plijesni. Razrijeđeni uzorci su stavljeni u Petrijeve zdjelice. U njih je dodan agar (PCA). Ostavljeni su 72 sata u inkubatoru na 30°C da bi se razvile kolonije aerobnih mezofilnih bakterija. Nakon 72 sata brojili smo kolonije bakterija koje su se razvile. Rezultati istraživanja pokazali da su se prije pokvarili proizvodi s manje mliječne masti i oni koji nisu bili prekriveni folijom. Kod proizvoda s manje mliječne masti plijesni su se razvijale brže te je prekrivenost micelijem bila znatno veća. Na proizvodima koji su držani izvan hladnjaka brže se pojavila plijesan. Na proizvodima držanima u hladnjaku razvilo se puno više bakterija. Rezultati su potvrdili naše pretpostavke da mliječna mast usporava kvarenje mliječnih proizvoda.

Ključne riječi: *mliječna mast, vrhnje, sir, bakterije*

UVOD

Mliječni proizvodi (npr., sir, kiselo vrhnje) su prerađevine mlijeka. Oni se dobivaju fermentacijom mlijeka. Fermentacija je složen proces. Bakterije mliječnih kiselina pretvaraju mliječni šećer u mliječne kiseline. Mliječne kiseline nakon toga mliječni šećer cijepaju u glukozu i galaktozu (Tratnik 1998). Mliječna kiselina u fermentiranim proizvodima ima zaštitnu ulogu, sprječava brzo kvarenje proizvoda. No, trajnost fermentiranih proizvoda je ograničena (Tratnik i Božanić 2012). Mliječne kiseline su glavni dio mliječne masti. Mliječnu mast čini složena smjesa lipidnih tvari. Ona ima važnu ulogu u sastavu mliječnih proizvoda jer utječe na ugodan okus, aromu, konzistenciju i teksturu proizvoda (Miletić 1994). Važnost mliječne masti možemo uočiti po tome što se mlijeko plaća prema postotku mliječne masti (Pavičić 2006). Količina masti je najviše promjenjiva, te je u usporedbi sa ostalim sastojcima relativno stabilna (Tratnik 1998). Fermentirani mliječni proizvodi imaju veliku važnost u svakodnevnoj prehrani. Smatraju se zdravima i visokovrijednim namjernicama ljudske prehrane. Imaju visoku vrijednost proteina te visoku probavljivost (Havranek i Rupić 2003). Pojavom plijesni možemo uočiti da se proizvod pokvario. Plijesni su mikroskopske gljive koje rastu u obliku hifa. Više hifa tvori micelij. Boje plijesni mogu biti zelena, žuta, crna. Boju dobivaju sporama. One su u stalnoj borbi sa bakterijama. Plijesni luče tvari koje su otrovne za bakterije, tj. antibiotike. Bakterije su najbrojnija skupina organizama. Većina ih je nužna za održavanje uvjeta na Zemlji. Postoje: kuglaste (koki), štapičaste (bacili) i zavojite (spirili). Razmnožavanjem bakterija nastaju kolonije. Agar je hranjiva podloga na kojoj se razvijaju kolonije bakterija. Neke bakterije mogu ugroziti ljudski život. Za većinu bakterija danas ima lijekova (antibiotika) kojima se mogu izliječiti. Kod proizvoda koji se počinju kvariti, razvijaju se aerobne mezofilne bakterije. To su bakterije koje se razvijaju na temperaturi od 25 do 45°C uz kisik (Bendelja i sur. 2014).



Tema našega rada je važna radi očuvanja mliječnih proizvoda. Problem je što se mliječni proizvodi brzo kvare i imaju kratki rok trajanja zbog neadekvatnih uvjeta čuvanja. U radu želimo dokazati da udio mliječne masti utječe na brzinu kvarenja proizvoda (Bendelja i sur. 2014).

Obrazloženje teme

Mlijeko sadrži mnogo hranjivih tvari: laktozu, mliječne masti, bjelančevine, minerale (kalcij, fosfor, kalij i magnezij) te vitamine (vitamin D, vitamin A, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B12). Upravo ga mliječna mast, bjelančevine, vitamini i minerali čine neizostavnim u svakodnevnoj prehrani. Udio mliječne masti utječe na okus mliječnih proizvoda i konzistenciju. Mliječni proizvodi podložni su brzom kvarenju. Preporučuje se čuvati ih u hladnjaku jer se tako očuva njihova kvaliteta i održi rok trajanja. Kod pokvarenog mliječnog proizvoda, plijesan je prvi pokazatelj da je mliječni proizvodi neupotrebljiv. Nakon plijesni razvijaju se i bakterije. Konzumacija kvarljivih proizvoda opasna je za ljudsko zdravlje. Problem je što se mliječni proizvodi brzo pokvare zbog kratkog roka trajanja i neadekvatnih uvjeta čuvanja. U našem radu želimo dokazati da udio mliječne masti utječe na brzinu kvarenja mliječnih proizvoda. U analizi ćemo koristiti kiselo vrhnje i sir različitih postotaka mliječne masti. Temeljem navedenog, postavili smo ciljeve istraživanja „Kako masti u siru i vrhnju utječu na razvoj plijesni i bakterija“, a to su:

- Određivanje kako uvjeti čuvanja vrhnja i sira utječu na razvoj plijesni i bakterija.
- Istraživanje koliko treba vremenski da se na vrhnju i siru razvije plijesan.
- Analiziranje koje se bakterije razvijaju i koliko ih ima količinski.
- Utvrđivanje razlike u razvitku plijesni i bakterija na mliječnom proizvodu (sir, kiselo vrhnje) s manje mliječne masti i na onom s više mliječne masti.

Proizvodi će se držati na sobnoj temperaturi i u hladnjaku te će ih pola biti pokriveno prozirnom folijom. Bilježit će se koliko dana treba da se pojavi plijesan, koja se plijesan pojavila i koliko je količinski ima. Nakon pojave plijesni, uzorci će biti analizirani u laboratoriju. Tamo ćemo saznati koje su se bakterije stvorile i koliko ih je. Pretpostavljamo da će se na mliječnim proizvodima s više mliječne masti stvoriti manje plijesni i bakterija, a da će se na proizvodima s manje mliječne masti stvoriti više plijesni i bakterija (Landeka i sur. 1993). Očekujemo da će se na proizvodima s manje mliječne masti plijesan i bakterije razviti brže, a da će se sporije razviti kod proizvoda s više mliječne masti. Ako bi rezultati potvrdili naše pretpostavke, onda bismo time poboljšali očuvanje mliječnih proizvoda, te im produžili rok trajanja. Znali bismo sa sigurnošću koje se bakterije i plijesni razvijaju te koliko su oni opasni po ljudsko zdravlje.

MATERIJAL I METODE RADA

Materijal koji je korišten u istraživanju:

- Kiselo vrhnje (12% masti)
- Kiselo vrhnje (25% masti)
- Zrnati sir (10% masti)
- Sir (35% masti)

Svakog proizvoda izmjereno je 20g.

**KISELO VRHNJE (12% masti)**

Izmjerilo se 4x20g kiselog vrhnja. Uzeta su 4 tanjurića na koje je stavljeno vrhnje. Dva tanjurića stavljena su u hladnjak na 5°C. Jedan je pokriven prozirnom folijom. Dva tanjurića stavljena su na sobnu temperaturu na 20°C. Jedan je pokriven folijom. Tanjurići su svakodnevno promatrani golim okom i bilježene su promjene.

KISELO VRHNJE (25% masti)

Izmjerilo se 4x20g kiselog vrhnja. Uzeta su 4 tanjurića na koje je stavljeno vrhnje. Dva tanjurića stavljena su u hladnjak na 5°C. Jedan je pokriven prozirnom folijom. Dva tanjurića stavljena su na sobnu temperaturu na 20°C. Jedan je pokriven folijom. Tanjurići su svakodnevno promatrani golim okom i bilježene su promjene.

ZRNATI SIR (10% masti)

Izmjerilo se 4x20g zrnatog sira. Uzeta su 4 tanjurića na koje je stavljeno vrhnje. Dva tanjurića stavljena su u hladnjak na 5°C. Jedan je pokriven prozirnom folijom. Dva tanjurića stavljena su na sobnu temperaturu na 20°C. Jedan je pokriven folijom. Tanjurići su svakodnevno promatrani golim okom i bilježene su promjene.

SIR (35% masti)

Izmjerilo se 4x20g sira. Uzeta su 4 tanjurića na koje je stavljeno vrhnje. Dva tanjurića stavljena su u hladnjak na 5°C. Jedan je pokriven prozirnom folijom. Dva tanjurića stavljena su na sobnu temperaturu na 20°C. Jedan je pokriven folijom. Tanjurići su svakodnevno promatrani golim okom i bilježene su promjene.

PLIJESAN

Svakodnevnim promatranjem uzoraka uočena je plijesan. Datumi pojavljivanja plijesni dokumentirani su u tablicu. Uzeto je povećalo te se provela procjena prekrivenosti uzorka micelijem na svih 16 uzoraka. Za procjenu je korištena sljedeća metodologija: 0 – promjer micelija manji od 4 mm; 1 – micelij promjera do 4mm; 2 – micelij promjera do 10mm; 3 – prekrivenost micelijem 10-25%; 4 – prekrivenost micelijem 25-50%; 5 – prekrivenost micelijem 50-75%; 6 – prekrivenost micelijem 75-100%. Određena je prosječna prekrivenost za svaki uzorak i dokumentirana u tablicu.

BAKTERIJE

Pojava plijesni upućuje da je proces kvarenja uzoraka započeo, što znači da su se razvile bakterije. Budući da školski mikroskop ima premalu rezoluciju da se uoče bakterije, uzorci su odneseni u laboratorij. U laboratoriju je napravljen niz razrjeđenja. Razrjeđenja se rade da bi lakše prebrojili bakterije, tj. da se ne bi razvile preko cijele petrijeve zdjelice. Tada ih ne bismo mogli prebrojiti. Prvo je napravljeno osnovno razrjeđenje. Razrjeđenje se radilo po Hrvatskoj normi-Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizma. Stavljeno je 10 g uzorka u sterilnu vrećicu te se dodalo 90 ml razrjeđivača tj. fiziološke otopine. Vrećice su stavljene u miješalicu gdje su se 30 sekundi miješale. Time se dobilo razrjeđenje 10^{-1} . Dalje su se radila decimalna razrjeđenja. Uzeto je 1 ml osnovnog razrjeđenja pomoću pipete te je stavljeno u sterilnu epruvetu. Pomiješano je sa 9 ml fiziološke otopine. Sastojci se uvijek moraju homogenizirati. Tako dobijemo razrjeđenje 10^{-2} . Tako radimo i sljedeća razrjeđenja. Jedan ml svakog ispitanog uzorka stavljan je u praznu sterilnu petrijevu zdjelicu.



U nju je naliveno 12-15 ml hranjivog agara (PCA). Petrijeve zdjelice sa agarom bilo je potrebno pažljivo promiješati kružnim pokretima. Petrijeve zdjelice ostavljene su 72 sata u inkubatoru na 30°C kako bi se razvile kolonije bakterija. Nakon 72 sata utvrđen je broj kolonija pomoću povećala. Uzorci bakterija uzeti su sterilnim štapićem te su stavljeni na predmetno stakalce. Na njih je stavljena kapljica vode. Nakon toga je stavljeno pokrovno stakalce. Pomoću mikroskopa je utvrđeno o kojim je bakterijama riječ. Uzorci su označeni brojevima od 1 do 16.

MJERE PREDOSTROŽNOSTI

Tijekom rada posvećena je pažnja na higijenske uvjete rada u laboratoriju. Sve površine su prije i poslije rada dezinficirane, korištene su kute, posuđe prije pranja steriliziralo u autoklavu, nakon rada su se prale ruke.

Obavljena je analiza podataka i izrađeni su grafikoni i tablice. Podatci su prikazani u postocima.

REZULTATI

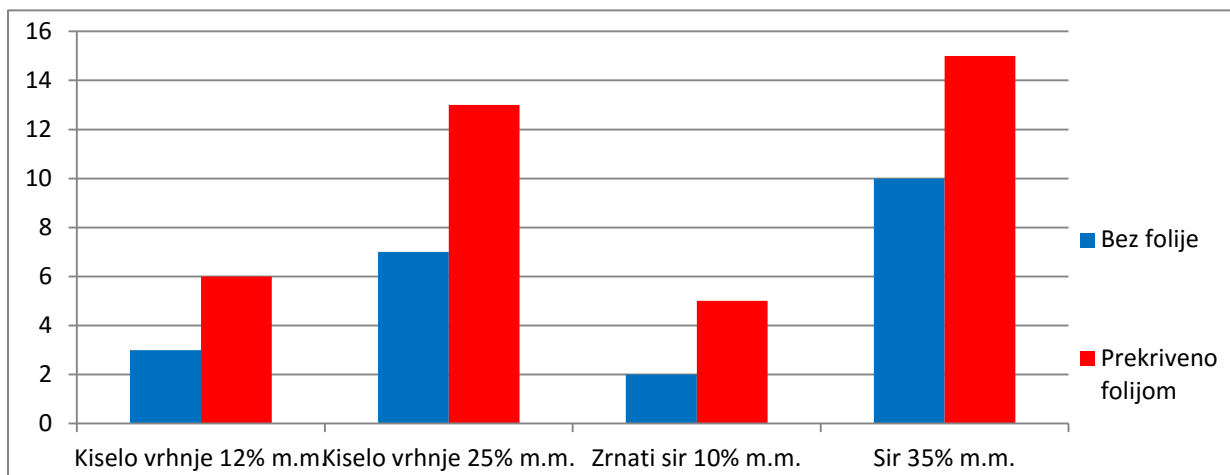
Kvarenje proizvoda

Vrhnje i sir su provjeravani svaki dan. Promatrali su se povećalom. Datumi kvarenja su bilježeni. Određeno je koliko je dana trebalo da se pojavi plijesan na vrhnju i siru. Pojava plijesni je prvi znak da se proizvod počeo kvariti.

Vrhnje i sir držani izvan hladnjaka

Osam uzoraka kiselog vrhnja i sira držalo se izvan hladnjaka. Bila su dva uzorka kiselog vrhnja (12% m.m.), dva uzorka kiselog vrhnja (25% m.m.), dva uzorka zrnatog sira (10% m.m.), dva uzorka sira (35% m.m.). Četiri uzorka bili su prekriveni folijom, a četiri nisu bili prekriveni folijom. Svi uzorci držani su na 20°C. Provjeravani su svakodnevno. Kada se pojavila plijesan, proučavani su povećalom. Zabilježeni su datumi pojave plijesni te je izračunato koliko je dana trebalo da se proizvod pokvari (slika 1):

- Prvi se pokvario uzorak zrnatog sira (10% m.m.), koji nije bio prekriven folijom. Pokvario se za dva dana.
- Uzorak kiselog vrhnja (12% m.m.), koji nije bio prekriven folijom, pokvario se treći dan.
- Uzorak zrnatog sira (10% m.m.), koji je bio prekriven folijom, pokvario se peti dan.
- Uzorak kiselog vrhnja (12% m.m.), koji je bio prekriven folijom, pokvario se šesti dan.
- Uzorak kiselog vrhnja (25% m.m.), koji nije bio prekriven folijom, pokvario se sedmog dana.
- Uzorak sira (35% m.m.), koji nije bio prekriven folijom pokvario se desetog dana.
- Uzorak kiselog vrhnja (25% m.m.), koji je bio prekriven folijom, pokvario se trinaesti dan.
- Uzorak sira (35% m.m.), koji je bio prekriven folijom, pokvario se petnaestog dana.

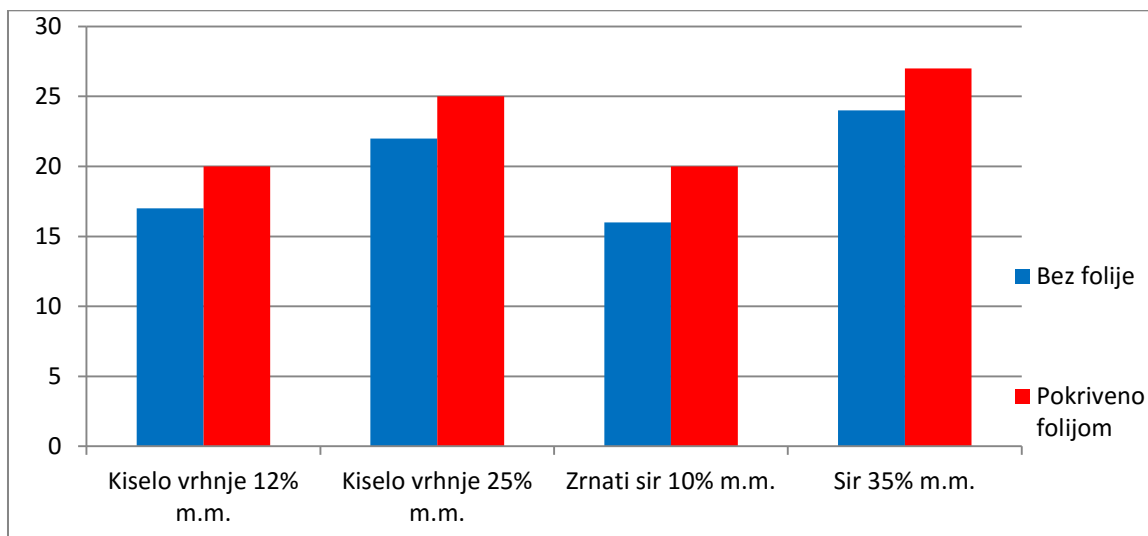


Slika 1 Koliko je dana trebalo vrhnju i siru, koji su držani izvan hladnjaka, da se pojavi plijesan

Vrhnje i sir držani u hladnjaku

Osam uzoraka kiselog vrhnja i sira držalo se u hladnjaku. Bila su dva uzorka kiselog vrhnja (12% m.m.), dva uzorka kiselog vrhnja (25% m.m.), dva uzorka znatog sira (10% m.m.), dva uzorka sira (35% m.m.). Četiri uzorka bila su prekrivena folijom, a četiri nisu bila prekrivena folijom. Svi uzorci držani su na 5°C. Provjeravani su svakodnevno. Kad se pojavila plijesan, proučavani su povećalom. Zabilježeni su datumi pojave plijesni te je izračunato koliko je dana trebalo da se proizvod pokvari (slika 2).

- Prvo se pokvario uzorak znatog sira (10% m.m.), koji nije bio prekriven folijom. Pokvario se za šesnaest dana.
- Uzorak kiselog vrhnja (12% m.m.), koji nije bio prekriven folijom, pokvario se za sedamnaest dana.
- Uzorak znatog sira (10% m.m.), koji je bio prekriven folijom, pokvario se za dvadeset dana.
- Uzorak kiselog vrhnja (12% m.m.), koji je bio prekriven folijom, pokvario se za dvadeset dana.
- Uzorak kiselog vrhnja (25% m.m.), koji nije bio prekriven folijom, pokvario se za dvadeset dva dana.
- Uzorak sira (35% m.m.), koji nije bio prekriven folijom, pokvario se za dvadeset četiri dana.
- Uzorak kiselog vrhnja (25% m.m.), koji je bio prekriven folijom, pokvario se za dvadeset pet dana.
- Uzorak sira (35% m.m.), koji je bio prekriven folijom, pokvario se za dvadeset sedam dana.



Slika 2 Koliko je dana trebalo vrhnju i siru, koji su držani u hladnjaku, da se pojavi plijesan

Plijesan

Znak da su se vrhnje i sir pokvarili bila je pojava plijesni. Nakon što je uočena plijesan na vrhnju i siru uzorke smo slikali. Pokrivenost micelijem određivala se nakon što se na svim uzorcima pojavila plijesan. Pokrivenost micelijem utvrđena je povećalom. Prikazana je na sljedeći način:

0-promjer micelija manji od 4 mm **4** - pokrivenost micelijem 25%-50%

1-micelij promjera 4 mm **5** - pokrivenost micelijem 50%-75%

2 - micelij promjera 10 mm **6** - pokrivenost micelijem 75%-100%

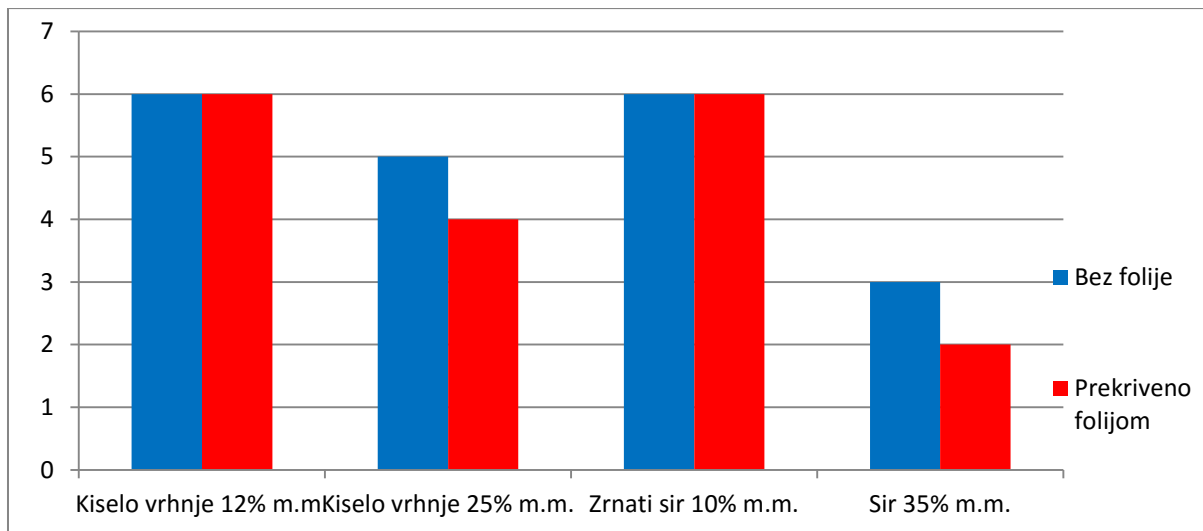
3 - pokrivenost micelijem 10%-25%

Vrhnje i sir držani izvan hladnjaka

Uzorci izvan hladnjaka prvi su se počeli kvariti (slika 3). Nakon što se na svim uzorcima pojavila plijesan, povećalom se utvrdila prekrivenost micelijem na gore navede način (0-6).

- Na kiselom vrhnju (12% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, pokrivenost micelijem je bila oko 85%, tj. 6.
- Na kiselom vrhnju (12% m.m.), koje je bio prekriveno folijom, pokrivenost micelijem bila je oko 80%, tj. 6.
- Na kiselom vrhnju (25% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, pokrivenost micelijem bila je oko 60%, tj. 5.
- Na kiselom vrhnju (25% m.m.), koje je bilo prekriveno folijom, pokrivenost micelijem bila je oko 45%, tj. 4.
- Na zrnatom siru (10% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, pokrivenost micelijem je bila 100%, tj. 6.
- Na zrnatom siru (10% m.m.), koje je bilo prekriveno folijom, pokrivenost micelijem bila je 100%, tj. 6.

- Na siru (35% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, prekrivenost micelijem bila je oko 20%, tj. 3.
- Na siru (35% m.m.), koje je bilo prekriveno folijom, prekrivenost micelijem bila je promjera oko 10mm, tj. 2.

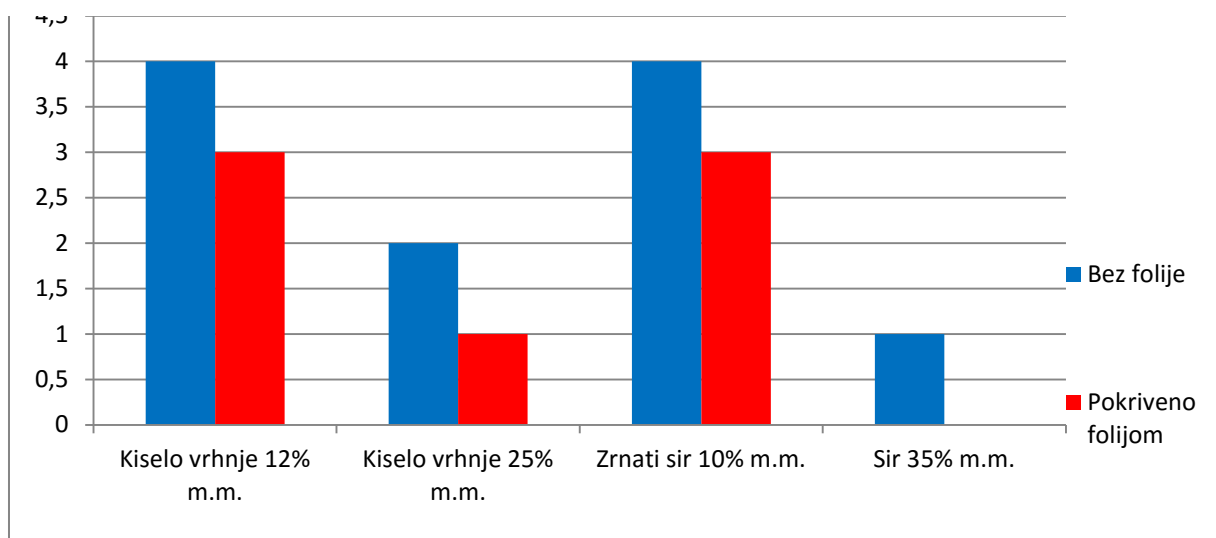


Slika 3 Prekrivenost micelijem vrhnja i sira koji su držani izvan hladnjaka

Vrhnje i sir držani u hladnjaku

Uzorci izvan hladnjaka prvi su se počeli kvariti (slika 4). Nakon što se na svim uzorcima pojavila plijesan, povećalom se ustvrdila prekrivenost micelijem na gore navede način (0-6).

- Na kiselom vrhnju (12% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, prekrivenost micelijem bila je oko 45%, tj. 4.
- Na kiselom vrhnju (12% m.m.), koje je bilo prekriveno folijom, prekrivenost micelijem bila je oko 15%, tj. 3.
- Na kiselom vrhnju (25% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, prekrivenost micelijem bila je promjera oko 10mm, tj. 2.
- Na kiselom vrhnju (25% m.m.), koje je bilo prekriveno folijom, prekrivenost micelijem bila je promjera 4mm, tj. 1.
- Na zrnatom siru (10% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, prekrivenost micelijem bila je oko 45%, tj. 4.
- Na zrnatom siru (10% m.m.), koje je bilo prekriveno folijom, prekrivenost micelijem bila je oko 20%, tj. 3.
- Na siru (35% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, prekrivenost micelijem bila je promjera 4 mm, tj. 1.
- Na siru (35% m.m.), koje je bilo prekriveno folijom, prekrivenost micelijem bila je promjera 2 mm, tj. 0.



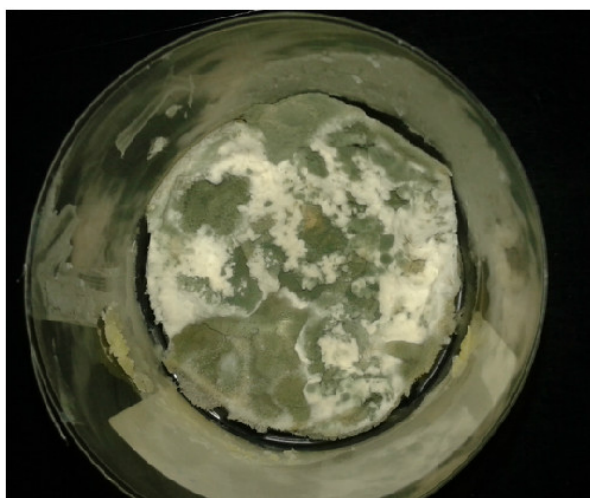
Slika 4: Prekrivenost micelijem vrhnja i sira koji su držani u hladnjaku

Vrste plijesni

Odredili smo i vrstu plijesni (tablica 1). Na kiselom vrhnju i siru razvila se zelena plijesan (slika 5). Samo su se na zrnatom siru razvile crne plijesni (slika 6).

Tablica 1: Vrste plijesni koje su se razvile kod vrhnja i sira

Uzorak	Vrsta plijesni
Kiselo vrhnje (12% m.m) - bez folije	Zelena
Kiselo vrhnje (12% m.m) - pokriveno folijom	Zelena
Kiselo vrhnje (25% m.m) - bez folije	Zelena
Kiselo vrhnje (12% m.m) - pokriveno folijom	Zelena
Zrnati sir (10% m.m) - bez folije	Crna
Zrnati sir (10% m.m) - pokriveno folijom	Crna
Sir (35% m.m) - bez folije	Zelena
Sir (35% m.m) - pokriven folijom	Zelena



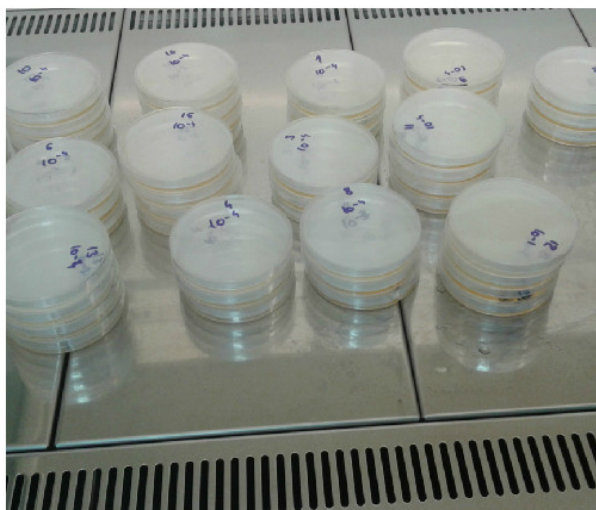
Slika 5: Zelene plijesni koje su se razvile na kiselom vrhnju



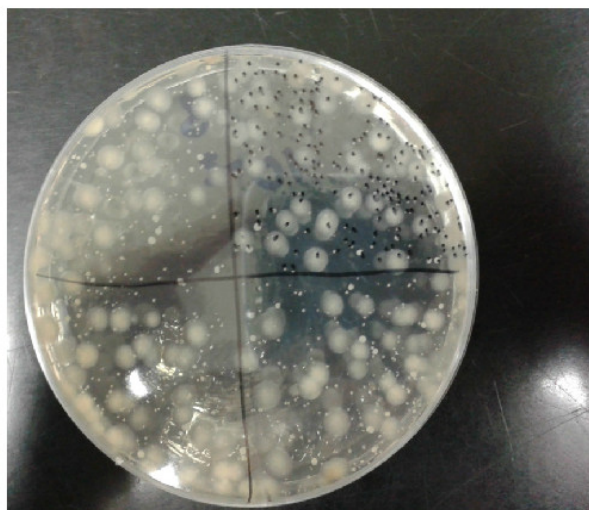
Slika 6: Crne plijesni koje su se razvile na zrnatom siru

Bakterije

Pojavom plijesni razvijaju se i bakterije. Nakon što se na svim uzorcima pojavila plijesan, uzorci su odneseni u laboratorij. U laboratoriju su rađena osnovna i decimalna razrjeđenja kako bismo mogli prebrojati kolonije bakterija. U sve Petrijeve zdjelice stavljen je agar te su stavljene u inkubator 72 sata (slika 7). Nakon 72 sata, brojile su se kolonije bakterija koje su se razvile (slika 8). Bakterije su bile kuglaste, aerobne, mezofilne.



Slika 7 Petrijeve zdjelice nakon stavljanja

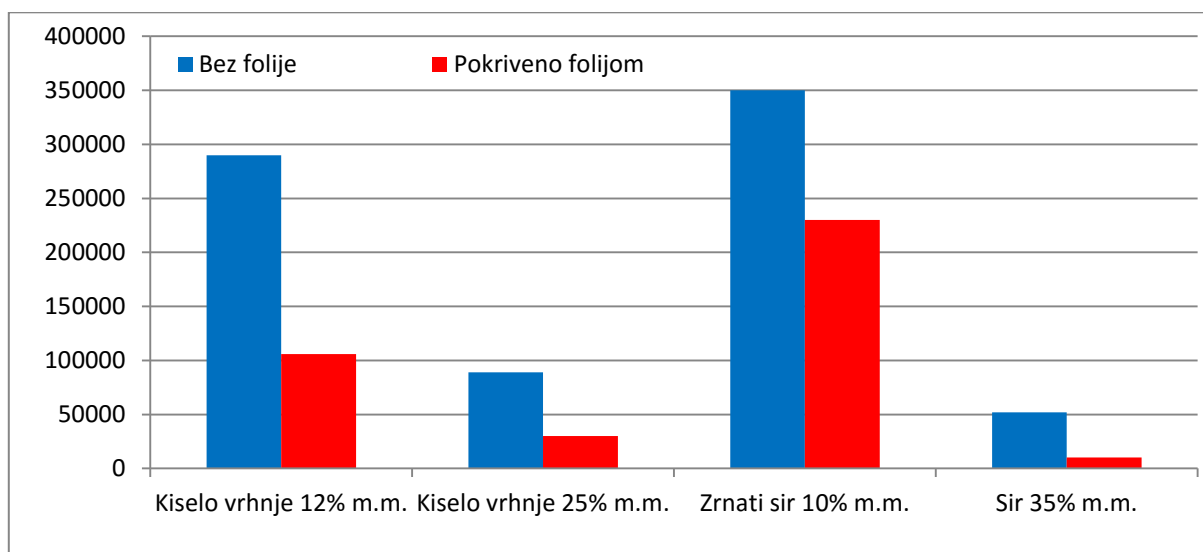


Slika 8 Brojenje bakterija agara

Vrhnje i sir držani izvan hladnjaka

Izbrojili smo kolonije koje su se razvile u 72 sata na uzorcima (slika 9):

- Na kiselom vrhnju (12% m.m.), koje nije bio prekriveno folijom, razvilo se 290000 kolonija.
- Na kiselom vrhnju (12% m.m.), koje je bilo prekriveno folijom, razvilo se 106000 kolonija.
- Na kiselom vrhnju (25% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, razvilo se 89000 kolonija.
- Na kiselom vrhnju (25% m.m.) koje je bilo prekriveno folijom razvilo se 30000 kolonija.
- Na zrnatom siru (10% m.m.), koji nije bio prekriven folijom, razvilo se 350000 kolonija.
- Na zrnatom siru (10% m.m.), koji je bilo prekriven folijom, razvilo se 230000 kolonija.
- Na siru (35% m.m.), koji nije bio prekriven folijom, razvilo se 52000 kolonija.
- Na siru (35% m.m.), koji je bio prekriven folijom, razvilo se 10300 kolonija.

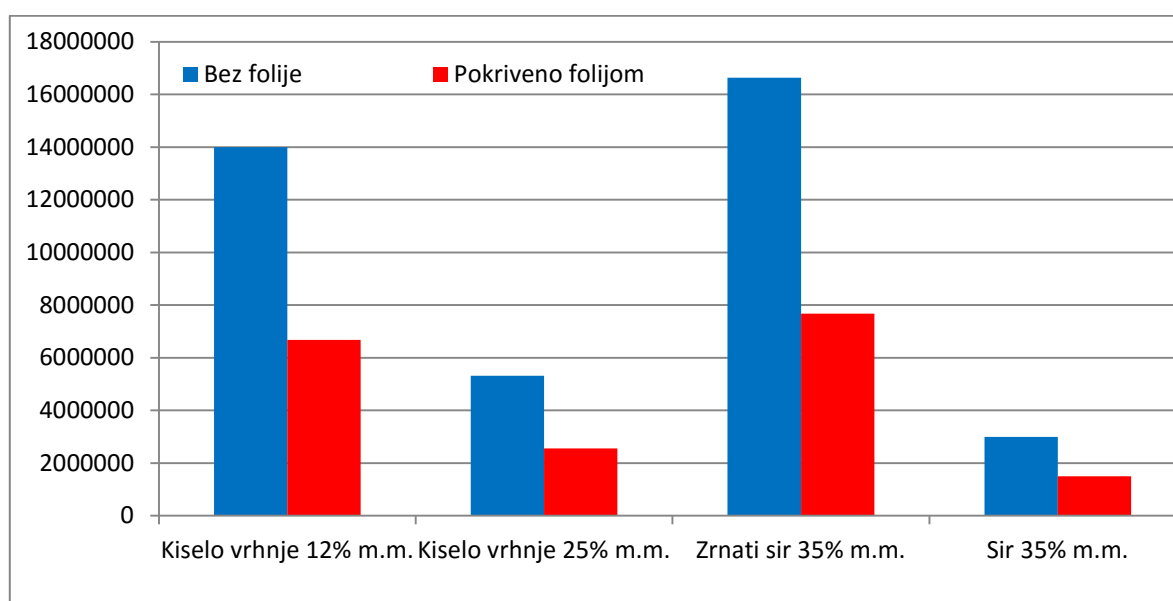


Slika 9 Broj kolonija nastalih od vrhnja i sira koji su držani izvan hladnjaka

Vrhnje i sir koji su držani u hladnjaku

Izbrojili smo kolonije koje su se razvile u 72 sata na uzorcima (slika 10). Ove smo rezultate dobili:

- Na kiselom vrhnju (12% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, razvilo se 14000000 kolonija.
- Na kiselom vrhnju (12% m.m.), koje je bilo prekriveno folijom, razvilo se 6680000 kolonija.
- Na kiselom vrhnju (25% m.m.), koje nije bilo prekriveno folijom, razvilo se 5320000 kolonija.
- Na kiselom vrhnju (25% m.m.), koje je bilo prekriveno folijom, razvilo se 2560000 kolonija.
- Na zrnatom siru (10% m.m.), koji nije bio prekriven folijom, razvilo se 16640000 kolonija.
- Na zrnatom siru (10% m.m.), koji je bilo prekriven folijom, razvilo se 7680000 kolonija.
- Na siru (35% m.m.), koji nije bio prekriven folijom, razvilo se 3000000 kolonija.
- Na siru (35% m.m.), koji je bilo prekriven folijom, razvilo se 1500000 kolonija.



Slika 10 Broj kolonija nastalih od vrhnja i sira koji su držani u hladnjaku



RASPRAVA

Naši rezultati su potvrdili pretpostavku da uvjeti čuvanja mliječnih proizvoda utječu na brzinu kvarenja i na razvoj plijesni. Uzorci koji su držani u hladnjaku sporije su se kvarili nego uzorci izvan hladnjaka. Usporedili smo rezultate dobivene za sve proizvode. Uspoređeni su: uzorak koji je držan izvan hladnjaka i nije prekriven folijom, uzorak koji je držan izvan hladnjaka i bio je prekriven folijom, uzorak koji je držan u hladnjaku i nije bio prekriven folijom te uzorak koji je držan u hladnjaku i bio je prekriven folijom.

Usporedili smo rezultate znatog sira (10% m.m.). Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između uzorka koji se prvi pokvario i onog koji se zadnji pokvario, je 18 dana. Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između dva uzorka koji nisu bili prekriveni folijom, je 14 dana. Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između dva uzorka koji su bili prekriveni folijom, je 15 dana.

Usporedili smo rezultate kiselog vrhnja (12% m.m.). Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između uzorka koji se prvi pokvario i onog koji se zadnji pokvario, je 17 dana. Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između dva uzorka koji nisu bili prekriveni folijom, je 14 dana. Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između dva uzorka koji su bili prekriveni folijom, je 14 dana.

Usporedili smo rezultate kiselog vrhnja (25% m.m.). Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između uzorka koji se prvi pokvario i onog koji se zadnji pokvario, je 18 dana. Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između dva uzorka koji nisu bili prekriveni folijom, je 15 dana. Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između dva uzorka koji su bili prekriveni folijom, je 12 dana.

Usporedili smo rezultate sira (35% m.m.). Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između uzorka koji se prvi pokvario i onog koji se zadnji pokvario, je 17 dana. Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između dva uzorka koji nisu bili prekriveni folijom, je 14 dana. Razlika u broju dana, koliko je trebalo uzorku da se pokvari između dva uzorka koji su bili prekriveni folijom, je 12 dana.

Naši rezultati potvrđuju dosadašnje rezultate, koji su dokazali da se mlijeko koje se drži otvoreno izvan hladnjaka brže pokvari od onog koje se drži zatvoreno u hladnjaku (Deshpande 2009). Uzorci koji su držani u hladnjaku sporije su se kvarili zbog niže temperature (5°C). Također smo potvrdili da mliječna mast utječe na brzinu kvarenja proizvoda.

Uvjeti čuvanja utjecali su i na razvoj plijesni. Na uzorcima koji su držani izvan hladnjaka razvilo se znatno više plijesni nego na uzorcima koji su držani u hladnjaku. Od osam uzoraka koji su držani izvan hladnjaka, na njih četiri (2 prekrivena folijom, 2 nisu prekrivena folijom) prekrivenost micelijem bila je 75% - 100%; na jednom (koji nije bio prekriven folijom) je prekrivenost micelijem bila 50%-75%; na jednom (koji nije bio prekriven folijom) je prekrivenost micelijem bila 25%-50%; na jednom (prekriven folijom) je prekrivenost micelijem bila 10%-25%, te na jednom (prekriven folijom) prekrivenost micelijem je bila 10 mm.



Od osam uzoraka koji su držani u hladnjaku, kod dva (nisu prekriveni folijom) je prekrivenost micelijem bila 25% - 50%; dva (prekriveni folijom) su imala prekrivenost micelijem 10% - 25%; na jednom (nije prekriven folijom) je prekrivenost micelijem bila 10 mm; na dva (prekriveni folijom) 4 mm, dok je na jednom (prekriven folijom) prekrivenost micelijem bila manja od 4 mm. Uspoređivanjem ovih dvaju rezultata vidimo veliku razliku u razvitku plijesni kod uzoraka koji su držani u hladnjaku i kod uzoraka koji su držani izvan hladnjaka. Time je potvrđena pretpostavka da uvjeti čuvanja mliječnih proizvoda utječu na razvoj plijesni.

Rezultati su potvrdili da mliječna mast utječe na brzinu kvarenja i razvoj plijesni. Kod uzoraka koji su držani u hladnjaku i kod uzoraka koji su držani izvan hladnjaka prvo se pokvario zrnati sir (10% m.m.), potom kiselo vrhnje (12% m.m.), zatim kiselo vrhnje (25% m.m.) te se zadnji pokvario sir (35% m.m.). Time je dokazana pretpostavka da mliječna mast utječe na brzinu razvoja plijesni te da može produžiti rok trajanja mliječnim proizvodima. Time je također dokazana tvrdnja da mliječna kiselina (glavni sastav mliječne masti) u fermentiranim proizvodima ima zaštitnu ulogu i sprječava brzo kvarenje proizvoda (Tratnik i Božanić 2012). Na uzorcima koji su držani u hladnjaku i kod uzoraka koji su držani izvan hladnjaka, manje se plijesni razvilo na proizvodima s manje mliječne masti. Na zrnatom siru (10% m.m.) razvilo se najviše plijesni, nešto manje plijesni nađenno je na kiselom vrhnju s manjim udjelom masti (12% m.m.) i na kiselom vrhnju s većim udjelom masti (25% m.m.), dok se na siru (35% m.m.) razvilo najmanje plijesni. Time je dokazana pretpostavka da će se kod uzoraka s manje mliječne masti razviti više plijesni, a da će se kod uzoraka s više mliječne masti stvoriti manje plijesni. Naši rezultati su u skladu sa rezultatima prethodnih istraživanja, kojima je također dokazano da se na proizvodima s manje mliječne masti razvije više plijesni, te obrnuto (Whitney 2005).

Naša pretpostavka, da uvjeti čuvanja utječu na razvoj bakterija, je kriva. Rezultati su pokazali da se daleko više bakterija razvilo na uzorcima koji su držani u hladnjaku nego na onima koji su držani izvan hladnjaka. Smatramo da smo dobili takve rezultate zbog razvoja plijesni. Plijesan pogoduje množenju bakterija, ali također ispušta otrovne tvari koje djeluju protiv bakterija, to jest antibiotike, tako da su plijesni i bakterije u stalnom sukobu. Pošto se više plijesni razvilo na uzorcima koji su držani izvan hladnjaka, pod utjecajem tvari (antibiotika) koje plijesni ispuštaju, uništilo se više bakterija. Na uzorcima u hladnjaku, stvorilo se manje plijesni te se stoga uništilo manje bakterija. Budući da se više bakterija stvorilo na uzorcima koji su držani u hladnjaku, smatramo da se proizvodi koji su dulje držani u hladnjaku ili se izvade iz hladnjaka i/ili odležuju, trebaju odmah iskoristiti, da bi se izbjeglo daljnje množenje bakterija. Pretpostavka da će se na uzorcima s manje mliječne masti razviti više bakterija potvrđena je rezultatima (prilog 6). Najviše bakterija razvilo se na zrnatom siru (35% m.m.), pa na kiselom vrhnju s 12% i 25% m.m., dok se najmanje bakterija razvilo na siru (35% m.m.).

ZAKLJUČCI

Nakon provedenog istraživanja, doneseni su sljedeći zaključci:

1. Mliječni proizvodi s manje mliječne masti brže se kvare od mliječnih proizvoda koji imaju više mliječne masti.
2. Mliječne proizvode bismo trebali držati u hladnjaku radi sporijeg kvarenja.
3. Na mliječnim proizvodima s manje mliječne masti razvije se više plijesni nego na mliječnim proizvodima s više mliječne masti.



4. Nakon što proizvode izvadimo iz hladnjaka ili ih odledimo, trebamo ih odmah pojesti ili upotrijebiti jer se inače razvije puno više bakterija.
5. Pravilni uvjeti čuvanja proizvoda usporavaju njegovo kvarenje.
6. Mliječne masti imaju važnu ulogu u sastojcima mliječnih proizvoda, utječu na njihovo kvarenje, konzistenciju, aromu, okus i teksturu.

LITERATURA

- Bendelja D., Benović I., Culjak Đ., Operta E., Pavić M., Roščak R., Valečić H. 2014. Biologija 7. Školska knjiga, Zagreb.
- Deshpande R. 2009. Got Milk? How do fat content, exposure to air and movement affect the shelf life of milk? Science projects, California. <http://www.usc.edu/CSSF/History/2009/Projects/J0408.pdf>
- Miletić S. 1994. Mlijeko i mliječni proizvodi. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, str. 17-20.
- Havranek J., Rupić V. 2003. Mlijeko od farme do mljekare. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, str. 11-13.
- HRN ISO 4832. 2012. Horizontalna metoda za brojenje. Hrvatska norma, Zagreb.
- Landeka I., Borović A., Kršev LJ. 1993. Utjecaj stabilizatora na viskoznost trajnog mliječnog proizvoda. Mljekarstvo 43: 277-290.
- Pavičić Ž. 2006. Mlijeko od mužnje do sira. Gospodarski list, Zagreb.
- Tratnik LJ. 1998. Mlijeko-tehnologija, biokemija i mikrobiologija. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, str. 20-25.
- Tratnik LJ., Božanić R. 2012. Mlijeko i mliječni proizvodi. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, str 27-35.
- Whitney B. 2005. Effect of mold growth on various types of cheese. Science projects, California. <http://www.selah.k12.wa.us/SOAR/SciProj2005/WhitneyB.htm>

USPOREDBA ANTROPOMETRIJSKIH KARAKTERISTIKA I MOTORIČKIH SPOSOBNOSTI UČENIKA 8. RAZREDA I NJIHOVIH RODITELJA U 8. RAZREDU RADA

Nina Jelenković, 8. r

Nensi Milohanić, 8. r

OŠ Vladimira Nazora, Pazin

Mentor: Maja Curić

SAŽETAK

U ovom istraživačkom radu uspoređivale smo antropometrijske karakteristike kao što su visina, težina, opseg podlaktice i indeks tjelesne mase te motoričke sposobnosti kao što su taping, skok u dalj s mjesta, podizanje trupa, pretklon i izdržaj u visu zgibom učenika 8. razreda i njihovih roditelja kada su bili u 8. razredu. Naša mjerenja su pokazala da su djeca i roditelji podjednako visoki, a roditelji teži te da djeca imaju veći indeks tjelesne mase. Iz mjerenja motoričkih sposobnosti saznale smo da su djeca bolja u tapingu, podizanju trupa i pretklonu, a roditelji kao osmaši u izdržaju u visu zgibom te su podjednako dobri u skoku u dalj.

Ključne riječi: *antropometrijske karakteristike, motoričke sposobnosti, taping, skok u dalj, podizanje trupa, pretklon, izdržaj u visu zgibom, indeks tjelesne mase*

UVOD

Antropometrija je istraživačka metoda antropologije koja se bavi utvrđivanjem dimenzija ljudskog tijela i njihovim prosuđivanjem (Hrvatska enciklopedija 1999). Cilj antropometrije je što točnijim mjerenjem kvantitativno okarakterizirati morfološke (morfološka antropometrija) i fiziološke (fiziološka antropometrija) osobine čovječjeg tijela koje su različite u različitim populacijama (Ujević 2006).

Početak izučavanja antropometrije zabilježen je u 18. stoljeću i konstantno se razvija. Kroz njezinu povijest, imala je razne primjene. Tako se, primjerice, antropometrija koristi u antropologiji, u mikroevolucijskim istraživanjima, u istraživanjima koja prate razvoj i rast djece te pri procjenama ishrane (dostupnosti hrane). U drugoj su polovini prošloga stoljeća države poput Velike Britanije i Belgije izračunom izradile svoje percentilne krivulje rasta temeljene na mjerama reprezentativnog uzorka djece i mladeži. Već pri praćenju razvojnog statusa djeteta prije rođenja, antropometrija se koristi pri ultrazvučnim mjerenjima (npr. mjerenje glave fetusa), kako bi se pratio rast i razvoj djeteta.

Rast, kao pojam, predstavlja kvantitativne anatomske i fiziološke promjene, a pojam razvoj predstavlja kvalitativne i psihološke promjene te razvoj osjetnih i motoričkih sposobnosti. Dokazano je da na rast i razvoj utječe niz vrlo složenih endogenih i egzogenih čimbenika. Endogeni čimbenici su biološko nasljeđe, hormonalni status i spol, dok su egzogeni prehrana, društveno-ekonomsko stanje, klima i ljudska rasa, porodna težina, kronične bolesti, sekularni porast, tjelesna aktivnost, vježbanje i sport.

Rezultati antropometrijskih mjerenja, najčešće visine i težine tijela, zbog jednostavnosti i brzine prikupljanja podataka iz kojih se izvodi indeks tjelesne mase (težina/visina), uspoređuje se s referentnim vrijednostima te se procjenjuje prosjek i odstupanje od njega. Usuglašeno je da se za referentne vrijednosti prihvate internacionalne vrijednosti Svjetske zdravstvene organizacije (WHO



2010). U našoj državi načinjeni su prvi koraci izrade vlastitih vrijednosti. Glavne prednosti antropometrije nad drugim procjenama stanja uhranjenosti su jednostavnost izvedbe, mogućnost ponavljanja i niski troškovi prikupljanja podataka.

Promjene u morfologiji tijela praćene kroz nekoliko generacija u prošlom su stoljeću imale pozitivan trend, odnosno, djeca su iz generacije u generaciju bila sve viša i sve su ranije sazrijevala. Ova pojava nazvana je „sekularna promjena“, a podrazumijeva više antropometrijskih obilježja poput težine, širine i opsega glave novorođenčadi, visinu, dužinu nogu, težinu, širinu glave i lica, opseg glave, promjer zdjelice djece i odraslih. Razlog pozitivnog sekularnog trenda u prošlom stoljeću (sekularni prirast visine tijela iznosio je 1 cm po desetljeću u državama zapadne Europe i Sjedinjenim Američkim Državama) bio je opće poboljšanje prehrane i zdravstvene zaštite, bolja medicinska pomoć, pozitivni pomaci u uvjetima stanovanja i malobrojnije obitelji.

Ranija su istraživanja našla razlike u antropometrijskim karakteristikama, motoričkim i funkcionalnim sposobnostima između učenika i učenica, koje su posljedica utjecaja spolnog dimorfizma, sredine i različitog programa nastave tjelesne i zdravstvene kulture. U istraživanju provedenom na području Zagreba, Pitomače i Virovitice željelo se utvrditi moguće razlike u antropometrijskim karakteristikama te motoričkim i funkcionalnim sposobnostima među učenicima i učenicama prvih razreda srednjih škola različitih usmjerenja (gimnazija, tehnička škola i strukovna škola, upisanih 2008./2009.) i životnih sredina (ruralna i urbana).

U zaključku istraživanja stoji da životna sredina utječe na antropometrijske, motoričke i funkcionalne sposobnosti ispitanika. Učenici i učenice iz urbane sredine značajno su viši, gipkiji i bolje repetitivne snage u odnosu na one iz ruralne sredine, koji imaju bolju statičku snagu, što se dovodi u vezu s većom mogućnosti bavljenja sportom u slobodno vrijeme u urbanoj sredini i drukčijim životnim navikama (Šegregur i sur. 2010).

Obrazloženje teme

Proučavajući zanimljive teme o prehrani i problemima vezanim uz sportsku neaktivnost djece, odlučile smo napraviti istraživački rad na tu temu. Kad smo započele ovaj rad, prvo što smo htjele bilo je usporediti prehranu, antropometrijske osobine i motoričke sposobnosti svojih roditelja (kad su bili u 8. razredu) i nas u osmom razredu. S obzirom na to da su se vremena promijenila, zanimalo nas je kako su naši roditelji provodili slobodno vrijeme i kakve su prehrambene navike imali u odnosu na danas. Zbog toga smo odlučile provesti ankete kod učenika osmih razreda i njihovih roditelja. Istom anketom smo ispitali i usporedile tjelesnu aktivnost i način prehrane tijekom jedne generacije s tim da su se roditelji trebali „vratiti u prošlost“ i ispuniti anketu kao osmaši. Napominjemo da smo vrijednosti rezultata djevojčica usporedile s rezultatima njihovih majki, a rezultate dječaka s rezultatima očeva.

Očekujemo da su današnja djeca teža i da imaju veći indeks tjelesne mase zbog sve manje tjelesne aktivnosti i drugačijeg stila života, koji predstavlja višesatni boravak pred TV-ekranima i za računalima. Pretpostavka je da su njihovi roditelji bili niži i imali su veći opseg podlaktice zbog većeg vremena provedenog u prirodi. Što se tiče prehrambenih navika, naši roditelji su kao osmoškolci imali



puno zdraviju prehranu, bogatu zdravim namirnicama, često uzgojenim u vlastitim vrtovima nego mi danas. Današnja djeca jedu sve više brzu hranu kao i slatkiše, a ne voće i povrće.

Uočile smo razlike kako se nekada živjelo na selu i u gradu te kako se sada živi na selu i u gradu. Isto tako, usporedile smo koliko često učenici jedu voće i povrće, slatkiše, meso, a i jedu li više domaći ili kupovni kruh. Pitale smo učenike bave li se kojim sportom i jesu li možda postigli koje zapažene rezultate na natjecanjima.

Trajanje i priroda puberteta određeni su genetskim potencijalom na koji utječu način života, prehrana i opće zdravstveno stanje. Budući da ćemo uspoređivati antropometrijske osobine roditelja i djece koji su najbliži po genetskim osobinama jedine razlike bit će uvjetovane prehranom i načinom provođenja slobodnog vremena, odnosno tjelesnom aktivnošću.

Kako sve te karakteristike utječu i na motoričke sposobnosti, u drugom dijelu rada usporedit ćemo motoričke sposobnosti današnjih osmaša i njihovih roditelja kada su bili 8. razred. Uspoređujemo taping, skok u dalj, podizanje trupa, pretklon i izdržaj u visu s zgibom.

Pretpostavljamo da će današnji osmaši biti bolji u tapingu, zbog češćeg igranja video igrica i korištenja mobitela, a roditelji u izdržaju u visu zgibom te u skoku u dalj (vježbama snage), zbog toga što su više vremena provodili u prirodi, penjali se po stablima i jeli zdraviju hranu.

Cilj je ovog istraživanja pratiti razvoj antropometrijskih karakteristika i nekih motoričkih sposobnosti kod osmaša tijekom jedne generacije.

UZORAK I METODE RADA

Ovo istraživanje započele smo u listopadu 2014. godine, tako da smo anketirale učenike osmih razreda i njihove roditelje koji su polazili našu školu. Ankete smo provele u četiri osma razreda. Ukupno je bilo 18 učenika i 18 roditelja, a od toga 13 učenika i njihovih majki te 5 učenika i njihovih očeva. Na satu tjelesne i zdravstvene kulture, navedenoj skupini učenika i učenica, uz poštivanje njihove anonimnosti, izmjerena je tjelesna visina, tjelesna težina i opseg podlaktice te je provedeno testiranje njihovih motoričkih i funkcionalnih sposobnosti standardnim testovima. Ujednačenost mjerenja osigurana je korištenjem točnih mjernih sredstava i metoda uz nazočnost za to educiranih profesora tjelesne i zdravstvene kulture.

Prikupile smo podatke učenika i roditelja koji su sudjelovali u našem istraživačkom radu s time da nam je učiteljica tjelesne i zdravstvene kulture ustupila sva navedena mjerenja za naše roditelje, jer im je ona bila učiteljica i ima sva potrebna mjerenja sačuvana u svojim bilježnicama. Zato su u istraživanju sudjelovali samo oni roditelji čije podatke smo mogli pronaći. Prikupljene podatke smo analizirale i usporedile rezultate učenika s rezultatima njihovih roditelja.

Osim standardnih antropoloških mjerenja tjelesne visine, tjelesne težine i opsega podlaktice, testirana je motorička i funkcionalna spremnost učenika i njihovih roditelja prema standardnim testovima: taping rukom (mjerenje brzine pokreta), skok u dalj s mjesta (mjerenje eksplozivne snage), pretklon raznožno (mjerenje gipkosti), izdržaj u visu zgibom (mjerenje statičke snage) i podizanje trupa (mjerenje repetitivne snage).

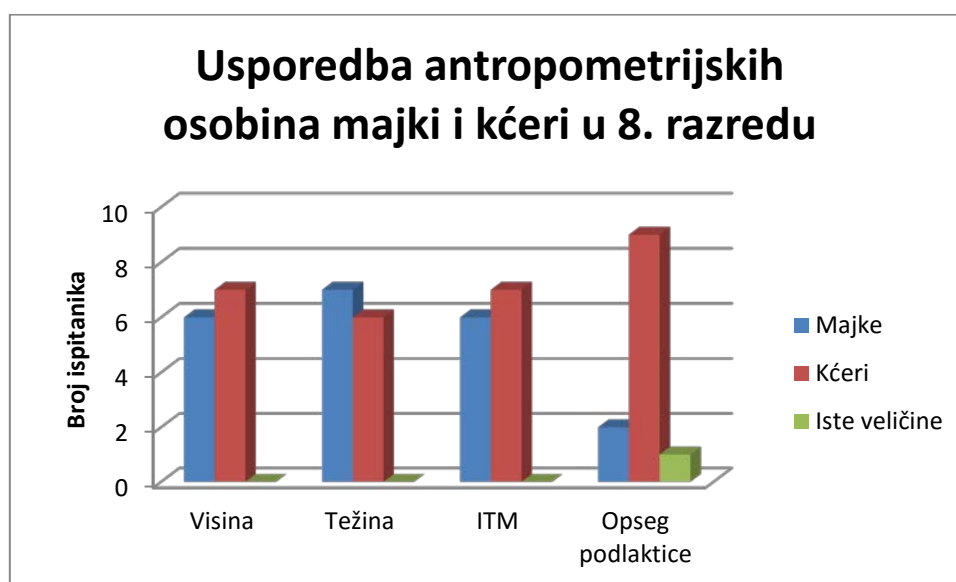


Usporedile smo pojedinačne rezultate učenica s majkama te učenika s očevima, zbrojile sve i zbrojile u kojim su motoričkim sposobnostima bolji današnji osmaši, a u kojim njihovi roditelji kao osmaši. Dobivene rezultate ćemo usporediti s odgovorima iz ankete i pokušat ćemo objasniti zašto je došlo do takvih promjena, odnosno koliko prehrana i fizička aktivnost utječu na pojedine sposobnosti. Za prikaz rezultata navedenih testova koristit ćemo aritmetičku sredinu te minimalne i maksimalne vrijednosti.

REZULTATI

Usporedba antropometrijskih osobina i motoričkih sposobnosti

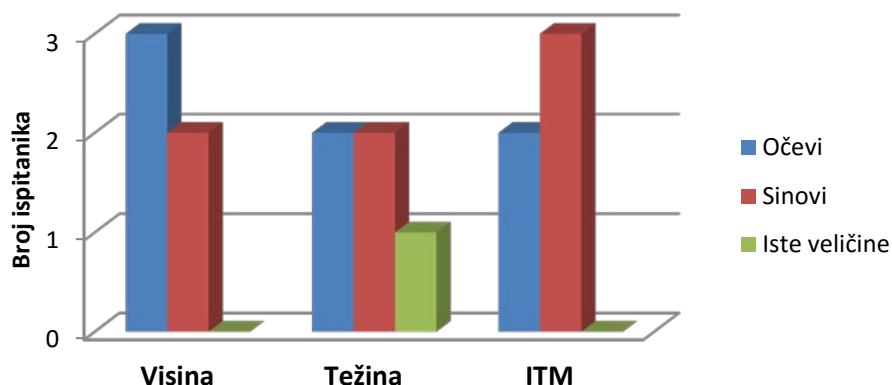
Iz slike 1 vidljivo je da kod kćeri dolazi do povećanja indeksa tjelesne mase. Majke su u prosjeku teže od svojih kćeri (54%), a kćeri su više (54%) i imaju veći indeks tjelesne mase (54%). Najveće razlike smo uočile kod mjerenja opsega podlaktice, 75% kćeri ima veći opseg od tadašnjih veličina opsega njihovih majki.



Slika 1 Grafički prikaz usporedbe antropometrijskih osobina majki i kćeri u 8. razredu

Očevi su u prosjeku viši (60%) od sinova (slika 2). Iako su tjelesne mase očeva i sinova podjednake, dolazi do povećanja indeksa tjelesne mase kod sinova. Zbog nedostatka podataka opsega podlaktice, za očeve nismo mogle usporediti te podatke.

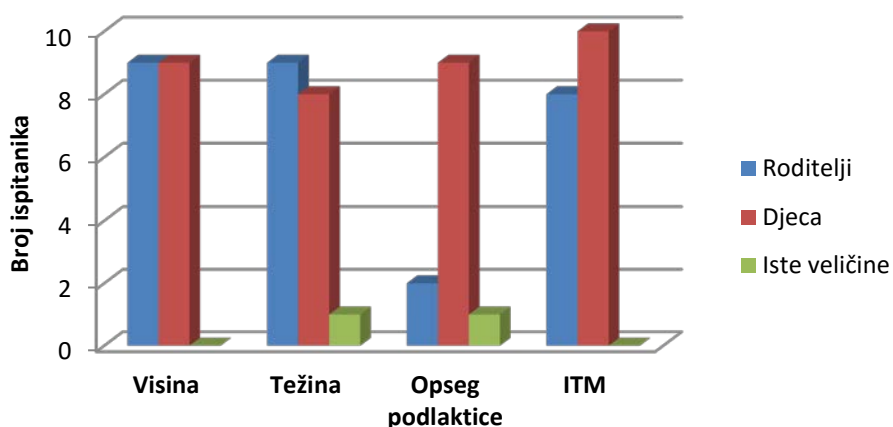
Usporedba antropometrijskih osobina očeva i sinova u 8. razredu



Slika 2 Grafički prikaz usporedbe antropometrijskih osobina očeva i sinova u 8. razredu

Slika 3 prikazuje usporedbu zajedničkih antropometrijskih osobina roditelja i djece (bez obzira na spol). Vidljivo je da je kod djece došlo do povećanja indeksa tjelesne mase u odnosu na njihove roditelje u 8. razredu.

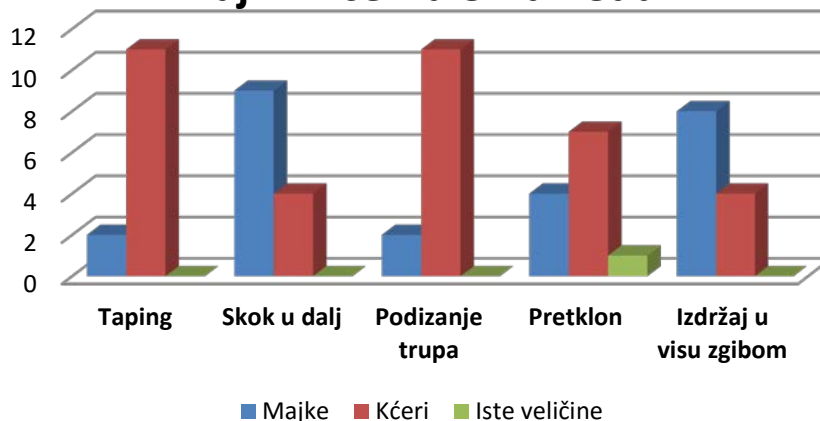
Usporedba antropometrijskih osobina roditelja i djece u 8. razredu



Slika 3 Grafički prikaz usporedbe antropometrijskih osobina roditelja i djece u 8. razredu

Kćeri su bolje u tappingu (84%), podizanju trupa (84%) i pretklonu (58%), a majke u skoku u dalju (69%) i izdržaju u visu zgibom (67%) (slika 4).

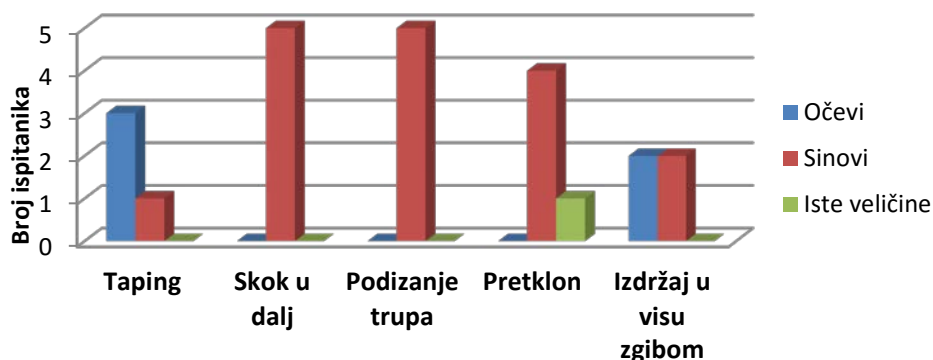
Usporedba motoričkih sposobnosti majki i kćeri u 8. razredu



Slika 4 Grafički prikaz usporedbe motoričkih sposobnosti majki i kćeri u 8. razredu

Iz slike 5 vidljivo je da su sinovi bolji u skoku u dalj (100%), podizanju trupa (100%) i pretklonu (80%). Očevi su bili bolji u tapingu (75%), a podjednako su dobri i očevi i sinovi u izdržaju u visu zglobom.

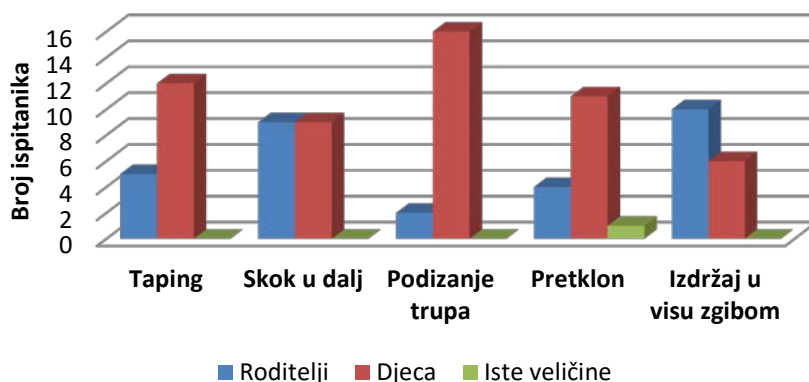
Usporedba motoričkih sposobnosti očeva i sinova u 8. razredu



Slika 5 Grafički prikaz motoričkih sposobnosti očeva i sinova u 8. razredu

Iz slike 6 vidljivo je da su djeca bolja u tapingu (70%), podizanju trupa (89%) i pretklonu (69%). Roditelji su bili bolji u izdržaju u visu zglobom (62%). Podjednako su dobri u skoku u dalj.

Usporedba motoričkih sposobnosti roditelja i djece u 8. razredu

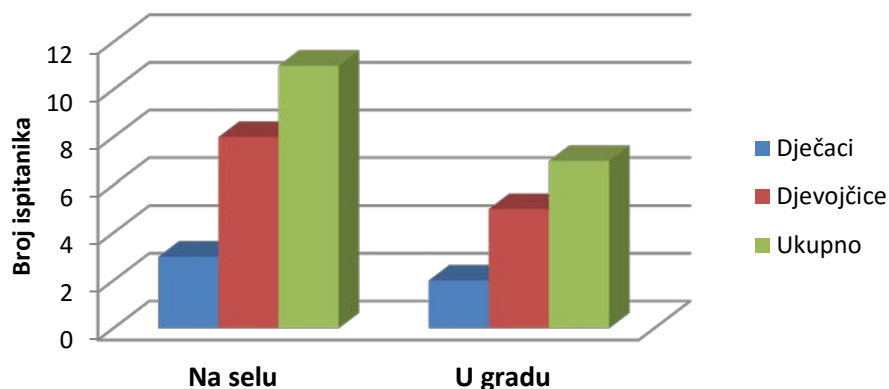


Slika 6 Grafički prikaz motoričkih sposobnosti roditelja i djece u 8. razredu

Analiza provedenih anketa

Više učenika živi na selu (slika 7), približno 61%, dok u gradu stanuje 39% učenika.

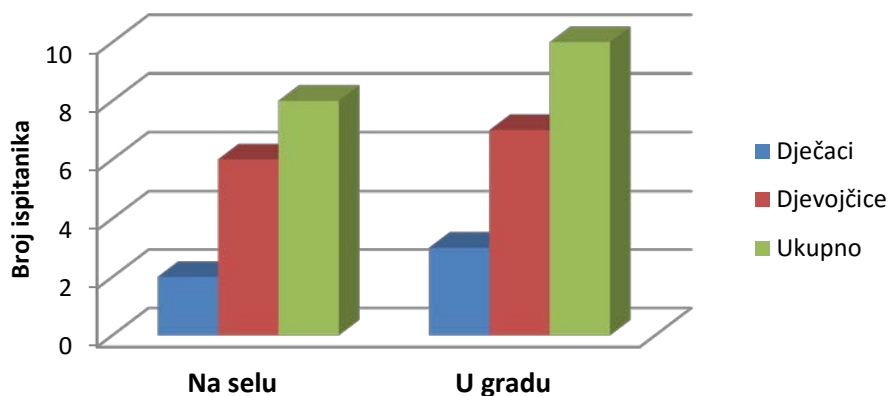
Raspodijela ispitanika s obzirom na mjesto prebivanja - učenici



Slika 7 Grafički prikaz raspodjele ispitanika s obzirom na mjesto prebivanja učenika

Roditelji su (slika 8) više stanovali u gradu, točnije 55%, dok su na selu živjeli njih 45%.

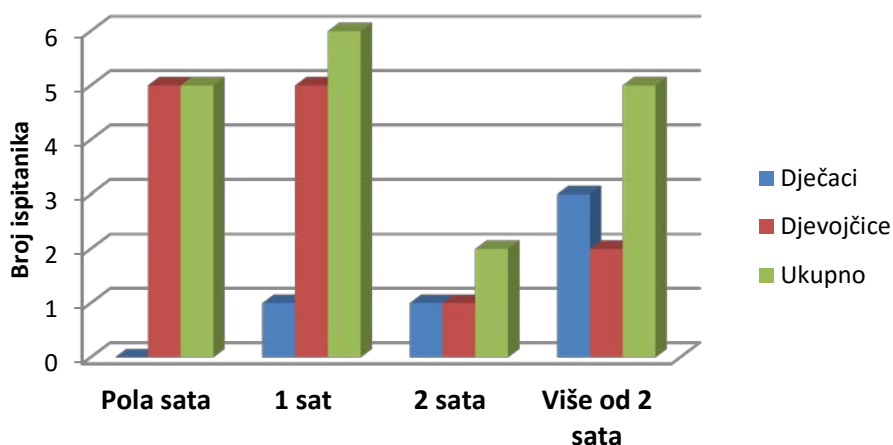
Raspodijela ispitanika s obzirom na mjesto prebivanja - roditelji kao osmaši



Slika 8 Grafički prikaz raspodjele ispitanika s obzirom na mjesto boravka roditelja kao osmaša

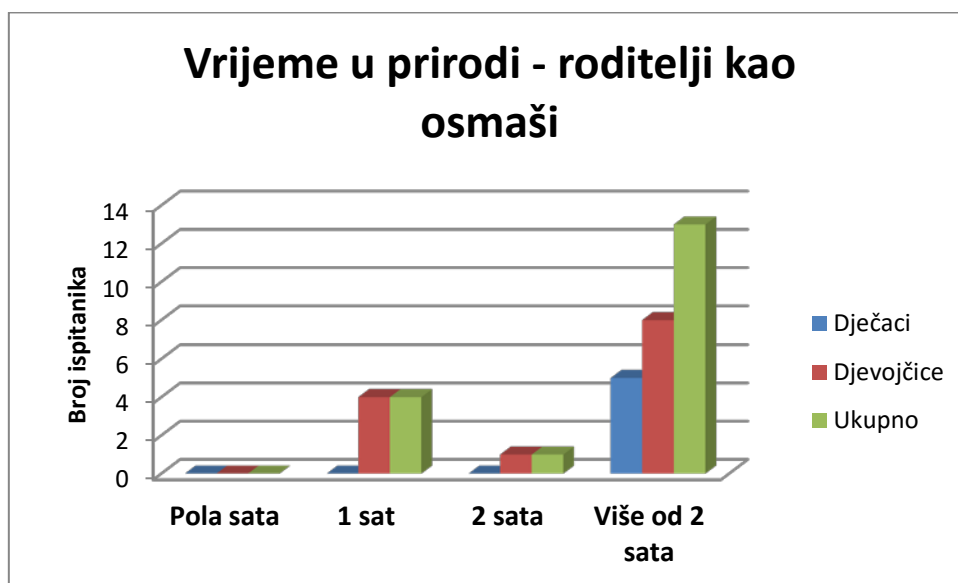
Iz slike 9 vidljivo je da djevojčice provode manje vremena u prirodi od dječaka, tj. 39 % boravi u prirodi pola sata, 39% boravi u prirodi 1 sat, a više od dva sata boravi njih 15%. Niti jedan dječak ne provodi pola sata u prirodi, a 60% njih boravi u prirodi više od 2 sata.

Vrijeme u prirodi - učenici



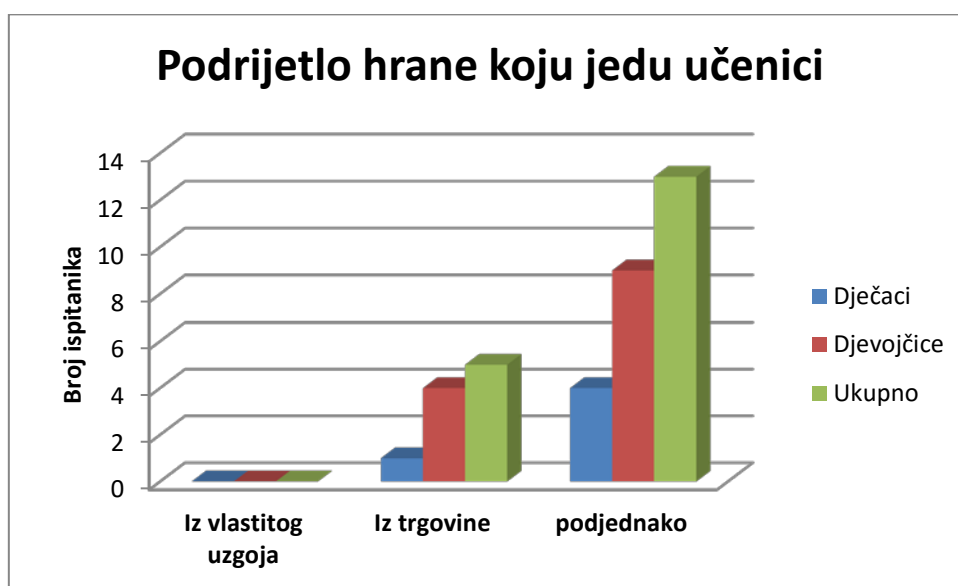
Slika 9 Grafički prikaz raspodjele vremena provedenog u prirodi dnevno (učenici)

Niti jedan roditelj (slika 10) nije boravio u prirodi pola sata, 31% djevojčica je boravilo u prirodi 1 sat, 7% je boravilo u prirodi 2 sata, dok je najviše njih boravilo u prirodi više od dva sata, tj. 62%. Svi dječaci su boravili u prirodi više od 2 sata, tj. 100%.



Slika 10 Grafički prikaz raspodjele vremena provedenog u prirodi dnevno (roditelji kao osmaši)

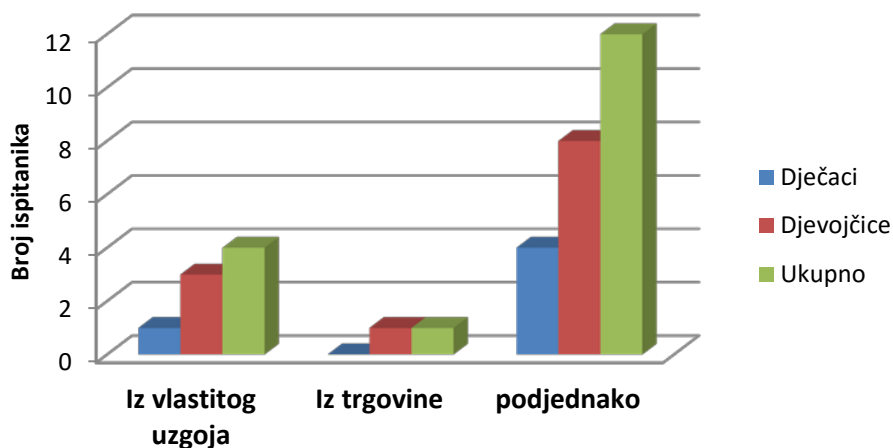
Niti jedan učenik ne jede svu hranu iz vlastitog uzgoja (slika 11), 30% djevojčica jede svu hranu iz trgovine, a njih 70% jede hranu i iz vlastitog uzgoja i iz trgovine. 20% dječaka jede svu hranu iz trgovine, a njih 80% jede hranu i iz trgovine i iz vlastitog uzgoja.



Slika 11 Grafički prikaz podrijetla hrane koju jedu učenici

Iz slike 12 vidljivo je da je hrana, koji su roditelji jeli, bila najviše iz podjednakog uzgoja, tj. i iz trgovine i iz vlastitog uzgoja.

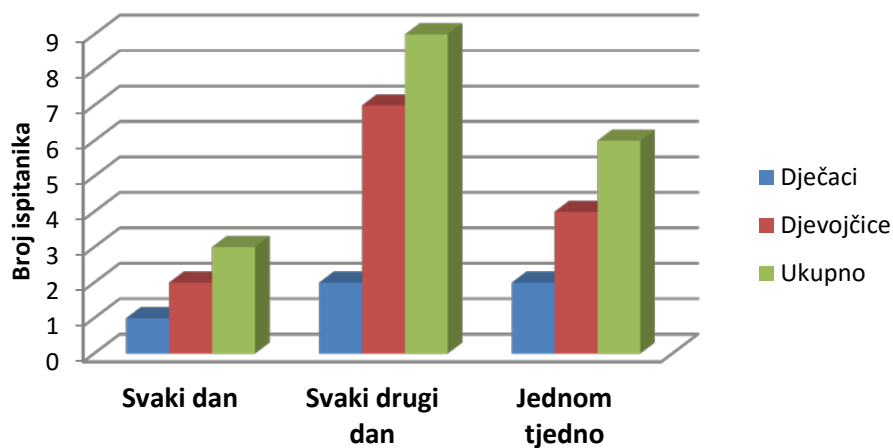
Podrijetlo hrane - roditelji kao osmaši



Slika 12 Grafički prikaz podrijetla hrane koju su jeli roditelji kao osmaši

Učenici svaki drugi dan jedu slatkiše (slika 13).

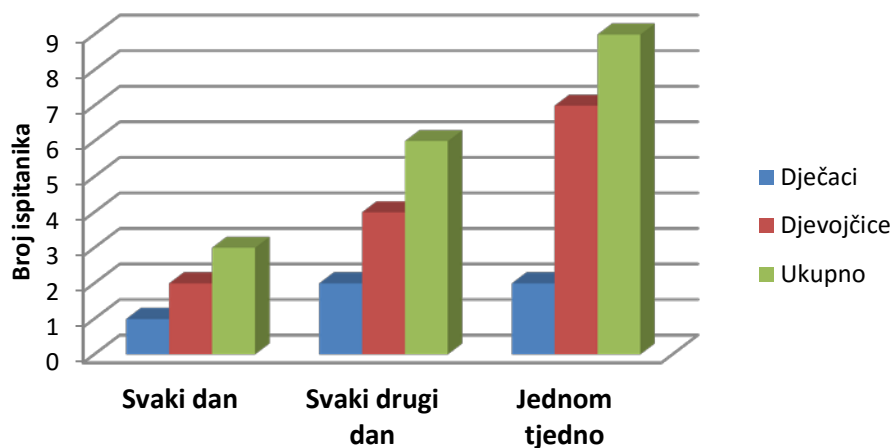
Koliko često učenici jedu slatkiše?



Slika 13 Grafički prikaz učestalosti jedenja slatkiša kod učenika

Roditelji su jednom tjednom jeli slatkiše (slika 14) .

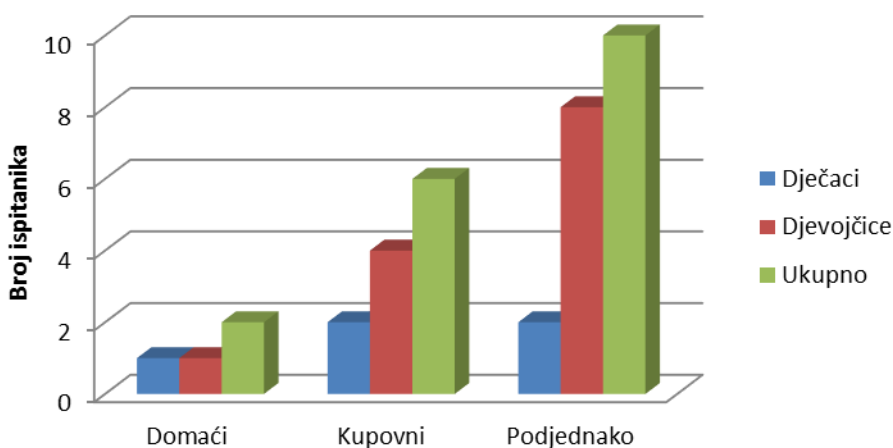
Koliko često su roditelji jeli slatkiše?



Slika 14 Grafički prikaz učestalosti jedenja slatkiša kod roditelja kao osmaša

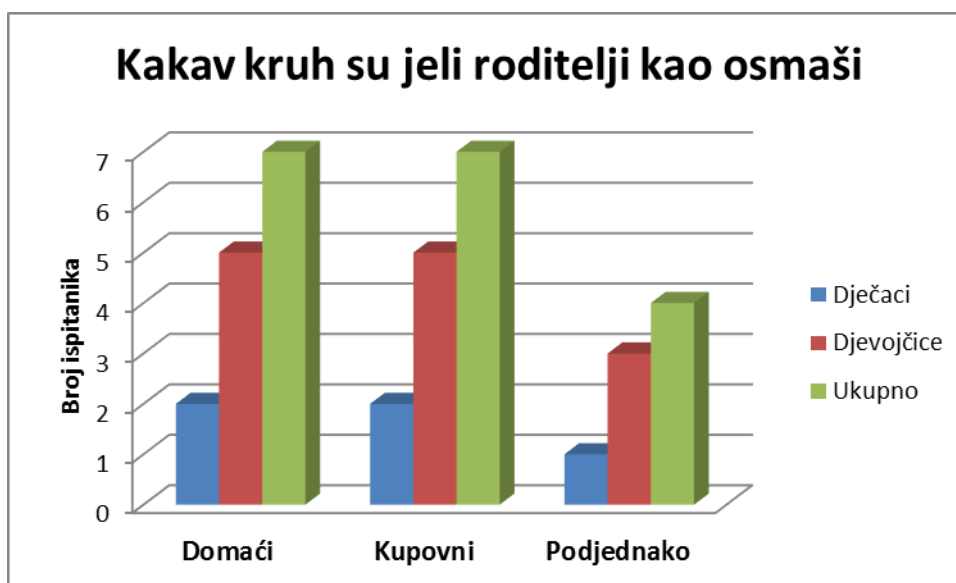
Iz slike 15 je vidljivo da više učenika jede i domaći i kupovni kruh podjednako, a samo mali broj učenika jede samo domaći kruh.

Kakav kruh jedu učenici?



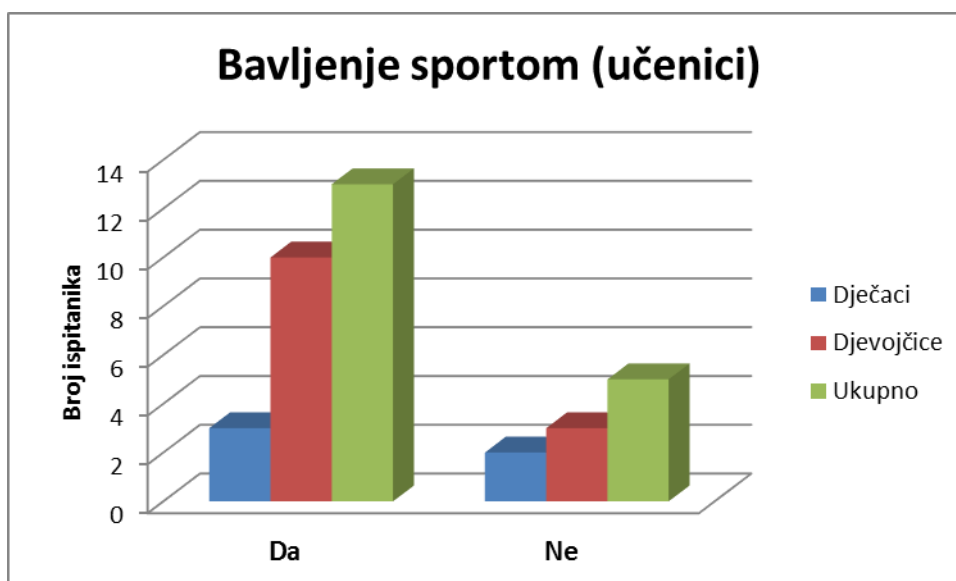
Slika 15 Grafički prikaz vrste kruha koje jedu učenici

Iz slike 16 je vidljivo da su roditelji najviše jeli samo domaći i samo kupovni kruh.



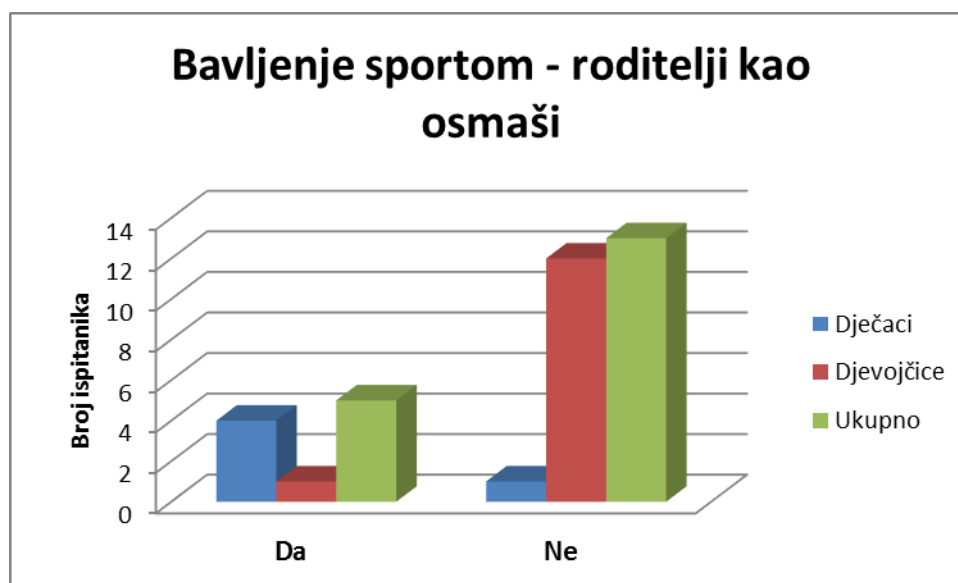
Slika 16 Grafički prikaz vrste kruha koje su jeli roditelji kao osmaši

Većina učenika bavi sportom, a manji dio ne (slika 17).



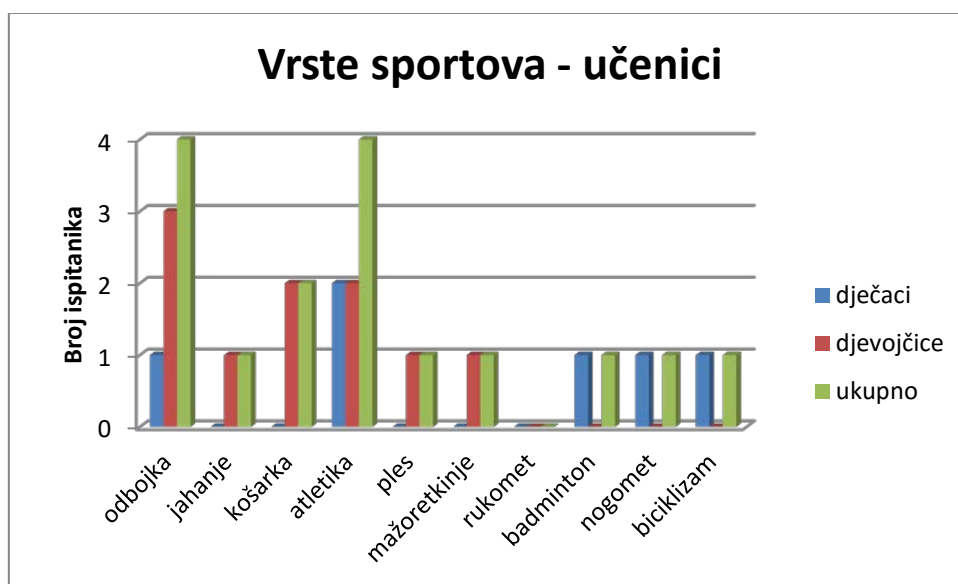
Slika 17 Grafički prikaz bavljenja sportom kod učenika

Iz slike 18 vidljivo je da se mali broj roditelja bavio sportom.



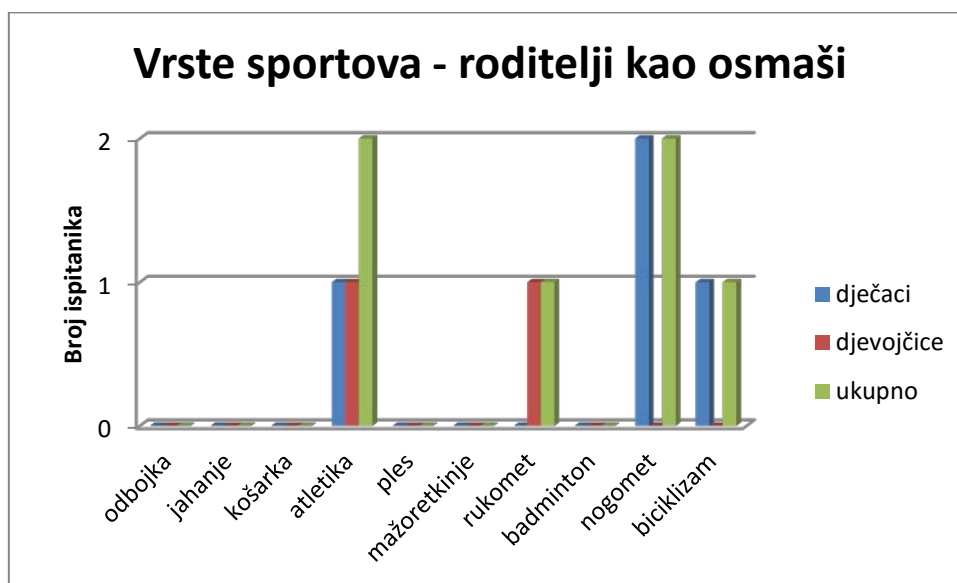
Slika 18 Grafički prikaz bavljenja sportom roditelja kao osmaši

Danas se najviše učenika bavi odbojkom i atletikom (slika 19), a manje ostalim sportovima.



Slika 19 Grafički prikaz vrsta sportova kojima se bave učenici

Najviše roditelja bavilo atletikom i nogometom, a manje ili ništa ostalim sportovima (slika 20).



Slika 20 Grafički prikaz vrsta sportova kojima su se bavili roditelji kao osmaši

RASPRAVA

Usporedba antropometrijskih osobina

Našim istraživanjem utvrdile smo da su majke bile teže od kćeri, dok su kćeri danas više, imaju veći indeks tjelesne mase i imaju veći opseg podlaktice. Moramo napomenuti da u jednom slučaju nismo bili u mogućnosti usporediti opseg podlaktice majke i kćeri zbog nepotpunih podataka majke.

Primjećujemo da su glavne razlike između antropometrijskih karakteristika majki i kćeri u tome da današnje djevojčice u 75% slučajeva imaju veći opseg podlaktice od njihovih majki. Pretpostavljamo da je do toga došlo zbog češćeg bavljenja sportom i učestalijeg treniranja (vidljivo iz anketa), što dovodi do povećanja mišićne mase.

Očevi su bili viši od sinova, a sinovi imaju veći indeks tjelesne mase te je težina podjednaka kod jednog učenika i njegovog oca, ali da su i očevi i sinovi podjednako teški. Veća visina kod očeva iskazana u postotcima iznosi 60 %, a kod sinova 40%. Veća težina iskazana u postotcima iznosi 40% za očeve, 40% za sinove, a 20% imaju jednaku težinu i otac i sin. Veći indeks tjelesne mase kod očeva u postotcima iznosi 40%, a kod sinova 60%. Moramo napomenuti da zbog nedostatka podataka nismo mogli uvrstiti i opseg podlaktice.

Općenita usporedba roditelja kao osmaša i njihove djece u osmom razredu je pokazala da pola roditelja kao osmaša ima veću visinu od svoje djece i pola djece ima veću visinu od svojih roditelja kao osmaša. 50% roditelja ima veću težinu od svoje djece, a 44% djece ima veću težinu od svojih roditelja kao osmaša te 6% imaju jednake veličine i roditelji kao osmaši i njihova djeca. Veći indeks tjelesne mase je kod roditelja 44% kao osmaša te 56% kod današnjih osmaša. Zbog nedostatka podataka, u grafički prikaz su uvršteni samo podatci o opsegu podlaktice majki i kćeri, a ne i očeva i sinova.



Glavne razlike kod antropometrijskih osobina uočile smo u opsegu podlaktice, današnja djeca u prosjeku imaju veći opseg podlaktice u odnosu na njihove roditelje u osmom razredu. Također, došlo je i do povećanja indeksa tjelesne mase (ITM) kod djece. Primijetile smo da su sinovi niži od očeva, a kćeri su više od majki. Utvrdile smo da na sve to utječu drugačija prehrana (u današnje vrijeme djeca sve više i češće jedu slatkiše, iz anketa je vidljivo da djeca svaki drugi dan jedu slatkiše, a roditelji su slatkiše jeli jednom tjedno) - dolazi do većeg nakupljanja masnog tkiva, bavljenje sportom (djeca se više bave sportom) – dolazi do povećanja mišićne mase te manje vremena provode u prirodi – troše manje kalorija.

Usporedba motoričkih sposobnosti

Cilj ovog istraživanja bio je usporediti antropometrijske osobine i motoričke sposobnosti današnjih osmaša i njihovih roditelja u osmom razredu. S obzirom da na antropometrijske osobine osim genetskih predispozicija utječu i vanjski faktori kao što su način prehrane, provođenja slobodnog vremena i bavljenje sportom, anketom smo utvrdile da se način života uvelike promijenio.

Kod motoričkih sposobnosti smo vidjele da su djeca bolja u tappingu (češće vrijeme provode za računalom te koriste pametne telefone na dodir) – 70% slučajeva, u pretklonu (više se bave sportom, više vježbaju, itd.) – 69% slučajeva i podizanju trupa (više se bave sportom, zbog problema s kralježnicom te zbog boljeg izgleda). Uočile smo da su roditelji bili bolji u izdržaju u visu zgibom (više vremena su provodili u prirodi, a i pomagali su obitelji u radu na polju).

Usporedba prehrane i sportskih aktivnosti

Više učenika (današnjih osmaša) živi na selu (61%), dok su roditelji više stanovali u gradu (55%). 28% današnjih učenika provodi pola sata u prirodi, 33% 1 sat u prirodi, 11% 2 sata u prirodi, a 28% više od 2 sata u prirodi. Rezultati kod roditelja su potpuno drugačiji. 28% ih je provodilo pola sata u prirodi, 33% po 1 sat u prirodi, 11% po 2 sata u prirodi, a 28% boravilo ih je više od 2 sata u prirodi. Ovi rezultati idu u prilog tome da su roditelji (kao osmaši) u prosjeku bili jači i izdržljiviji od svoje djece.

Broj obroka kod djece i roditelja je isti, po 4 obroka dnevno, nastoji se koristiti hrana iz vlastitog uzgoja s onom kupljenoj u trgovini (30% djevojčica jede svu hranu iz trgovine, a njih 70% jede hranu i iz vlastitog uzgoja i iz trgovine, dok je hrana koju su jeli roditelji i iz trgovine i vlastitog uzgoja (66%). Primjećujemo da se i danas i u prošloj generaciji nastojalo što kvalitetnije jesti. Glavna razlika u prehrani današnjih osmaša i njihovih roditelja je da današnji osmaši jedu više slatkiša (svaki drugi dan) dok su roditelji jednom tjednom jeli slatkiše.

Današnji osmaši više se bave sportom, jer su im dostupnije različite sportske aktivnosti, zbog toga i postižu bolje rezultate u podizanju trupa i pretklonu.

Današnje osmašice više se bave sportom, nego dječaci (77% djevojčica), dok su se dječaci nekada puno više bavili sportom, nego djevojčice (8% djevojčica i 80% dječaka). Djevojčice se najviše bave odbojkom, atletikom i košarkom (odbojka: 23%, atletika: 15% i košarka: 15%), a dječaci atletikom (40%). Djevojčice (današnje mame) najviše su se bavile atletikom i rukometom (atletika: 7% i rukomet: 7%), a dječaci nogometom (40%).



ZAKLJUČCI

Mjerenjima smo utvrdile:

- Kod antropometrijskih osobina djece dolazi do povećanja indeksa tjelesne mase te imaju veći opseg podlaktice. Roditelji su nešto teži od djece te su jednako visoki kao djeca.
- Kod motoričkih sposobnosti djeca su bolja u tappingu, podizanju trupa i pretklonu. Roditelji su bili bolji u izdržaju u visu zgibom. Podjednako su dobri u skoku u dalj.

Anketom smo utvrdile:

- Dolazi do povećanja trenda vraćanja životu na selu.
- Djevojčice provode manje vremena u prirodi od dječaka.
- Nitko ne jede svu hranu iz vlastitog uzgoja, ali najviše se pokušava ujednačiti hrana iz vlastitog uzgoja i iz trgovine. Također su i roditelji najviše jeli hranu i iz vlastitog uzgoja i iz trgovine.
- Najviše učenika konzumira slatkiše svaki drugi dan, dok je najviše roditelja jednom tjedno jelo slatkiše.
- Većina učenika se bavi sportom dok je kod roditelja bila obratna situacija te se većina roditelja nije bavila sportom.
- Najčešći sportovi koje učenici treniraju su odbojka i atletika, a roditelji su se najviše bavili atletikom i nogometom.

LITERATURA

- Matković T., Šučur Z., Zrinščak S. 2007. Inequality, Poverty and Material Deprivation in New and Old Members of European Union. Croatian Medical Journal 48: 636-652.
- Prskalo I., Nedić A., Sporiš. G, Badrić M., Milanović Z. 2011. Spolni dimorfizam motoričkih sposobnosti učenika dobi 13 i 14 godina. Hrvatski športskomedicinski Vjesnik 26: 100-105.
- Sporiš G., Milanović L., Jukić I., Omrčen D., Sampedro Molinuevo J. 2010. The effect of agility training on athletic power performance. Kinesiology 42: 65-72.
- Šegregur D., Kuhar V., Paradžik P. 2010. Antropometrijska, motorička i funkcionalna obilježja učenika prvih razreda srednjih škola. Hrvatski športskomedicinski vjesnik 25: 67-74.
- Ujević D. 2006. Hrvatski antropometrijski sustav. Tekstilno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, str. 229.
- World Health Organization, Regional office for Europe. 2010. 25-70% of adults in Europe are overweight. <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/healthtopics/noncommunicable-diseases/obesity/news/news/2010/12/2570-of-adults-in-europe-are-overweight>, pristupljeno: 14.11.2014.

UTJECAJ BOJE FOLIJE NA RAST I RAZVOJ SALATE

Tea Petricioli, 8 razred

Ema Čimbur, 8 razred

OŠ P. Preradovića, Zadar

Mentor: Mirica Brekalo

SAŽETAK

Tema istraživanja bila je kako boja folije (zelena, plava, žuta, crvena) utječe na rast i razvoj salate. Ciljevi rada bili su uočiti i izmjeriti razliku u rastu biljaka pod pojedinom bojom folije i doznati utječe li boja folije na količinu i raspored kloroplasta u listu. Provedeno je istraživanje na zimskoj salati posavki (*Lactuca sativa* var. *capitata*), u razdoblju od 70 dana. Sadnice salate bile su prekrivene folijama različitih boja (plava, zelena, crvena, žuta). Tijekom istraživanja sadnice su bile držane na istoj temperaturi te su imale jednaku količinu svjetlosti. Sa svakom bojom folije bilo je prekriveno 8 od 40 sadnica, a preostalih 8 bilo je pod prirodnim sunčevim svjetlom. Svaka dva tjedna uzimani su podatci o prosječnom broju, duljini i širini listova salate. Na temelju tih podataka došli smo do rezultata da salata pod zelenom folijom ima najveću promjenu duljine lista (2.5 cm), a salata uzgajana pod crvenom folijom ima najveću promjenu broja (7) i širine listova (2 cm). Uzeti su listovi sa svih sadnica salate, te je mikroskopiran poprečni presjek lista. Zaključeno je da salata koja je rasla pod zelenom folijom ima najveći broj kloroplasta u stanicama.

Ključne riječi: *salata, kloroplasti u listu, boja svjetlosti*

UVOD

Tema rada je razviti nove načine proizvodnje salate. Ti bi načini mogli poboljšati kvalitetu salate i ostalog bilja. Rast su kvantitativne promjene, povećanje mase i volumena, u biljnom organizmu koje se postižu izgradnjom i umnožavanjem stanica. U biljkama rast je ograničen na specijalizirane zone meristema. Primarni rast se zbiva u vrškovima izdanaka i korijena te u listovima i pupovima, a u većine biljaka je ekvivalent za produženi rast. Razvitak su kvalitativne promjene oblika, strukture i građe u životu organizma. Temelji se na procesima diferencijacije i specijalizacije, histogeneze i organogeneze (Springer i Pevalek–Kozlina 1997, Lukša i Mikulić 2009).

Zelena salata već je odavna popularna i čak je oslikana na staroegipatskim rezbarijama i slikarijama. Bila je popularna i među starim Rimljanima kojima se pripisuje da su je donijeli iz Velike Britanije. Prvobitna zelena salata bila je vjerojatno gorča i trebalo ju je izbjeljivati da bi postala jestiva, više nalik današnjoj endiviji (*Cichorium endivia*) (Machoy 2000).

Salata je jednogodišnja ili dvogodišnja biljka iz porodice glavočika. Najčešće se uzgaja kao lisnato povrće. Često se koristi u pripremi različitih jela. Zelena salata raste u glavicama. Glavičasta salata sadrži 94% vode, 1,2% bjelancevina, 0,2% biljnih masti, 2% šećera, 0,6% celuloze i 0,65 mineralnih tvari. U 100 g ima 10 mg vitamina C, 0,08 mg B1, 0,12 mg B2, 0,20 mg PP, 0,20 mg B6. Među mineralnim tvarima najznačajnije su soli kalija, željeza, fosfora i dr. U vanjskom lišću glavice nalazi se u 30 puta vitamina A i do 3 puta više vitamina C nego u unutrašnjem lišću glavice. Kada se koristi za jelo, bere se prije cvjetanja i plodonošenja. Uzgaja se u gotovo cijelom svijetu za potrebe kućanstava i u komercijalne svrhe. Raste na bogatim, humusnim vlažnim tlima (Glasnik zaštite bilja 2004). Postoje rane i kasne sorte te na stotine kultivira salate odabranih prema obliku i boji listova, vremenu rasta i roku trajanja (Poljoprivredna enciklopedija 1973).



Najpogodnije vrijeme uzgoja na otvorenom je proljeće i jesen, kada temperatura nije visoka. Sjeme salate niče na temperaturi 15-20°C, sjeme iznikne za 2-4 dana. Za otprilike 45-55 dana (što ovisi o sorti) salata dostiže svoj maksimalan rast (Poljoprivredna enciklopedija 1973).

Salata se najviše uzgaja sadnjom presadnica u rano proljeće ili kasno ljeto. Sjetva se obavlja 4 do 5 tjedana prije presađivanja. Najkvalitetnije se presadnice salate dobivaju uzgojem u kontejnerima ili prešanim tresetnim blokovima u kojima je zbog pravilnog rasporeda biljaka znatno veća ujednačenost presadnica, a presađivanje sa supstratom na korijenu omogućuje bolje primanje. Salate se presađuje najčešće na pripremljene gredice širine 100-120 cm sadnjom po četiri reda razmaka 25-30 cm (Glasnik zaštite bilja 2004).

Puževi i lisne uši dva su najgora problema u uzgoju salate. Ostali štetnici su korijenove uši i rovci. Glavna je bolest bijela trulež, a to mogu biti i ostale gljivične bolesti. Najčešće je to tijekom vlažnih sezona, a najlakše se može izbjeći ako glavice salate nisu posađene preblizu jedna drugoj. Tako će oko biljaka kružiti dovoljno zraka (Machoy 2000).

Sunčeva svjetlost ili solarno zračenje je cjelokupni spektar elektromagnetskog zračenja koje nam dolazi sa Sunca. Na Zemlji, Sunčeva svjetlost se prigušuje i filtrira kroz Zemljinu atmosferu. Ona je najveća na gornjoj granici atmosfere, a kako se približava tlu, slabi zbog upijanja i raspršenja na molekulama plinova i primjesa u atmosferi. Blještava Sunčeva svjetlost omogućuje osvjetljenje od 100 000 luksa ili lumen/m², na Zemljinoj površini. Sunčeva svjetlost ima odlučujuću ulogu za fotosintezu, koja je ključna za život na Zemlji.

U uzgoju salate koriste se razni pesticidi i umjetna gnojiva, a to je problem koji se ne može ublažiti. Tema istraživanja bila je koliko boje folije (zelena, plava, žuta, crvena) utječe na rast i razvoj salate.

Obrazloženje teme

Sunčeva svjetlost je vrlo važna za razvoj biljaka i za fotosintezu. Fotosinteza je proces u kojem se energija sunčeva zračenja pretvara u kemijsku energiju pohranjenu u organskim molekulama. Sunčeva svjetlost se sastoji od spektra boja pa nas je zanimalo pod kojim će svjetlom salata najuspješnije rasti. Spektar je svojstvo svjetlosti i predmeta na koje svjetlost pada, odnosno predmeta koji sami zrače. Svjetlost je određena valnom duljinom. Vidljiva svjetlost ima valne duljine raspoređene od 0,4 mm do 0,75 mm, od ljubičaste do zagrisito crvene. U sunčevoj svjetlosti se nalaze sve boje, no predmeti su neke dijelove zračenja upili (apsorbirali), a neke odrazili (reflektirali). Vegetacija apsorbira crvenu i plavu svjetlost, a reflektira zelenu pa nam biljke zato izgledaju zeleno. Početkom školske godine započeto je istraživanje utjecaja boje folije (zelena, plava, žuta, crvena) na rast i razvoj salate. U dobivanju rezultata postavile smo nekoliko pitanja: Pod kojom bojom folije će salata najuspješnije rasti? U kojem dijelu lista će kloroplasti biti smješteni? Koliko će kloroplasta biti u svakom listu? Problem je što se, u današnje vrijeme, za ubrzanje rasta salate te za dobivanje boljeg izgleda sve više koriste razni pesticidi i umjetna gnojiva. Pesticidi su kemijske tvari koje se rabe za zaštitu od insekata, grinja, korova i drugih nametljivaca. Oni mogu izazvati kancerogena oboljenja, oštećenja nasljednog materijala kao i reproduktivskih funkcija.



Kao što već znamo, povrće se proizvodi i zimi. Zbog nepovoljnih uvjeta proizvodnja se vrši u plastenicima ili staklenicima. U zatvorenom, povrće ne dobiva dovoljno hranjivih tvari koje bi dobilo na otvorenom prostoru. Taj nedostatak proizvođači nadopunjuju umjetnim gnojivima koja uništavaju tlo i mikroorganizme u njemu.

Prijedlozi u rješavanju problema su:

- upoznati veći broj ljudi o važnosti pravilnog uzgoja povrća
- istražiti utječe li boja folije na rast i razvoj salate
- istražiti kako boja folije utječe na smještaj i broj kloroplasta
- težiti smanjenju korištenja pesticida i umjetnih gnojiva, a povećati korištenje prirodnih sredstava za zaštitu povrća.

Ciljevi rada su:

- Uočiti i izmjeriti razlike u rastu biljaka pod pojedinom bojom folije
- Doznati utječe li boja folije na količinu i raspored kloroplasta u listu.

Pretpostavljeno je da će salata najbolje rasti pod crvenim ili plavim svjetlom folije na temelju toga što biljke apsorbiraju crvenu i plavu svjetlost. Ukoliko se ova pretpostavka pokaže točnom, ova istraživanja mogla bi biti uvod u neka opsežnija istraživanja.

MATERIJAL I METODE RADA

Materijali

U istraživanju su se koristile zimsku salatu posavke (*Lactuca sativa* var. *capitata*), četiri folije različitih boja (plava, zelena, crvena, žuta), plastični štapovi za učvršćivanje folija, posude za biljke te zemlja za sobno bilje. Za rad u laboratoriju korišten je: mikroskop, predmetno stakalce, pokrovno stakalce, nožić za pripremu preparata, infekcijska šprica i pinceta.

Metode

Sadnja salate

U dvije posude za sjetvu (svaki sa 80 sadnih mjesta) stavljen je humusni supstrat za uzgoj bilja te su posijane sjemenke salate. U posude je stavljeno oko 160 sjemenki (u svako sadno mjesto jedna do dvije) na dubinu od 1 cm. Nakon sjetve supstrat je dobro zaliven. Posuda je stavljena na toplo i osvijetljeno mjesto.

Presađivanje sadnica

Kada su sadnice imale četiri lista, bile su spremne za presađivanje. Odbrane su one koje su bile najzdravije i najrazvijenije. Odabrane sadnice su posađene, na dubini od 1,5 cm, u 10 posuda veličine 60x20x25cm (u svaku posudu po četiri). Zalijevane su redovito.

Postavljanje folija

Pripremljene su folije različitih boja (zelena, plava, žuta, crvena). Svakom folijom prekrivene su dvije posude. Dvije posude ostavljene su na prirodnoj svjetlosti kako bi se kasnije moglo usporediti rezultate. Za učvršćivanje folija korišteni su plastični štapovi koji su zabijeni u kutove posuda. Između ruba posude i ruba folije ostavljen je prazan prostor kako sadnice ne bi ostale bez zraka (slika 1). Posude su smještene u plastenik.



Slika 1 Postavljanje folija

Mjerenje sadnica

U razdoblju od tri mjeseca (listopad, studeni i prosinac 2014. godine), promatran je razvoj salate. Promjene u dužini, širini i broju listova mjereno je ravnalom. Rezultati su pisani u tablice. U tablicama su prikazani rezultati mjerenja i razlika među dobivenim rezultatima. Rast salate je prikazan grafički. Postupak je ponavljan svaka dva tjedna. Sadnice su slikane fotoaparatom.

Mikroskopiranje listova

Nakon što je salata dosegla svoju punu veličinu, od svake sadnice odrezan je jedan list (slika 2). Preparati su položeni na predmetno stakalce. Kapaljkom je dodana kap vode. Sve je prekriveno pokrovnim stakalcem (slika 3). Preparat je promatran pod povećanjem od 10 000x. Mikroskopiranjem je utvrđen broj i veličina kloroplasta te njihov smještaj u listu. Rezultati su prikazani tablično.



Slika 2 Priprema preparata za mikroskopiranje



Slika 3 Preparat

REZULTATI

Istraživanje je započeto 16. listopada 2014. i trajalo je do 23. siječnja 2015. Mjerenje salate je započeto 19. studenog 2014., a zadnje mjerenje je bilo nakon 42 dana. Kraj eksperimenta s uspoređivanjem je bio 23. siječnja 2015.g. Sadnice su niknule nakon 6 dana. Sve su sadnice salate bile smještene na istočnoj strani plastenika, na istoj temperaturi te su dobivale jednaku količinu sunčeve svjetlosti tijekom istraživanja. Rezultate su obrađeni statistički te prikazani tablično.



Slika 4 Sadnice salate pod žutom folijom



Slika 5 Sadnice salate pod zelenom folijom

Mjerenje salate

Kod salate uzgajane na prirodnoj sunčevoj svjetlosti, od 19. studenog do 31. prosinca 2014. godine, prosječni broj listova se promijenio za 6. Prosječna duljina lista se u prethodno navedenom razdoblju promijenila za 1.5 cm, a širina se promijenila za 1 cm.

Tablica 1 Rezultati mjerenja pojedinih obilježja salate pod prirodnom sunčevom svjetlosti

Datum	19.11.	03.12.	17.12.	31.12.
Prosječni broj listova	4	7	8	10
Prosječna duljina lista	7 cm	8 cm	8.5 cm	8.5 cm
Prosječna širina lista	3 cm	3.5 cm	4 cm	4 cm

Kod salate uzgajane pod plavom folijom, od 19. studenog do 31. prosinca 2014. godine, prosječni broj listova se promijenio za 2. Prosječna duljina lista se u prethodno navedenom razdoblju promijenila za 1.5 cm, a širina se, također, promijenila za 1.5 cm.

Tablica 2 Rezultati mjerenja pojedinih obilježja salate pod plavom svjetlosti

Datum	19.11.	03.12.	17.12.	31.12.
Prosječni broj listova	4	5	6	6
Prosječna duljina lista	8.5 cm	8.5 cm	9.5 cm	10 cm
Prosječna širina lista	2.5 cm	3.5 cm	3.5 cm	4 cm

Kod salate uzgajane pod zelenom folijom, od 19. studenog do 31. prosinca 2014. godine, prosječni broj listova se promijenio za 3. Prosječna duljina lista se u prethodno navedenom razdoblju promijenila za 2.5 cm, a širina se promijenila za 1.5 cm.



Tablica 3 Rezultati mjerenja pojedinih obilježja salate pod zelenom svjetlosti

Datum	19.11.	03.12.	17.12.	31.12.
Prosječni broj listova	4	5	6	7
Prosječna duljina lista	10 cm	11 cm	12 cm	12.5 cm
Prosječna širina lista	3.5 cm	4.5 cm	5 cm	5 cm

Kod salate uzgajane pod crvenom folijom, od 19. studenog do 31. prosinca 2014. godine, prosječni broj listova se promijenio za 7. Prosječna duljina lista se u prethodno navedenom razdoblju promijenila za 2 cm, a širina se, također, promijenila za 2 cm.

Tablica 4 Rezultati mjerenja pojedinih obilježja salate pod crvenom svjetlosti

Datum	19.11.	03.12.	17.12.	31.12.
Prosječni broj listova	4	5	7	11
Prosječna duljina lista	8 cm	9 cm	10 cm	10 cm
Prosječna širina lista	3 cm	3.5 cm	4 cm	5 cm

Kod salate uzgajane pod žutom folijom, od 19. studenog do 31. prosinca 2014. godine, prosječni broj listova se promijenio za 3. Prosječna duljina lista se u prethodno navedenom razdoblju promijenila za 1.5 cm, a širina se, također, promijenila za 1.5 cm.

Tablica 5 Rezultati mjerenja pojedinih obilježja salate pod žutom svjetlosti

Datum	19.11.	03.12.	17.12.	31.12.
Prosječni broj listova	4	6	7	7
Prosječna duljina lista	10 cm	10.5 cm	11 cm	11.5 cm
Prosječna širina lista	3.5 cm	4.5 cm	5 cm	5 cm

Salata uzgajana pod zelenom folijom ima najveću promjenu duljine lista, dok salata uzgajana pod crvenom folijom ima najveću promjenu broja listova i najveću promjenu širine lista. Salata pod žutom folijom dala je najlošije rezultate.

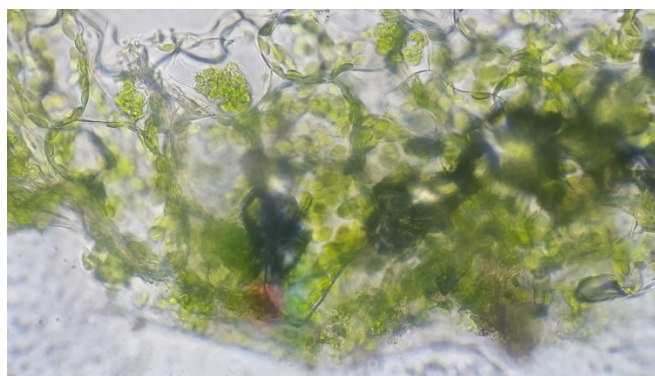
Tablica 6 Promjena pojedinih obilježja na salati pod različitim bojama folije

Svjetlost	Prirodna	Plava	Zelena	Crvena	Žuta
Promjena broja listova	6	2	3	7	3
Promjena duljine lista	1.5 cm	1.5 cm	2.5 cm	2 cm	1.5 cm
Promjena širine lista	1 cm	1.5 cm	1.5 cm	2 cm	1.5 cm

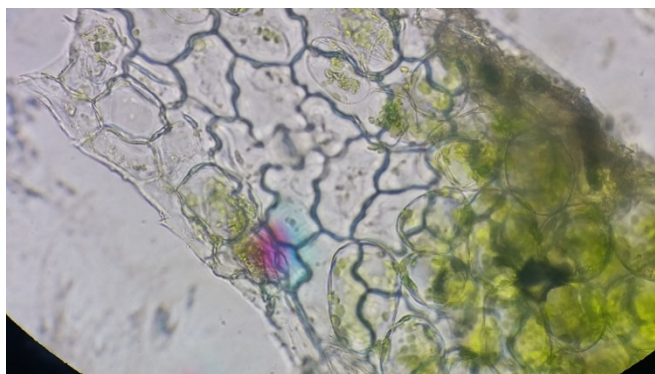
Što je veća promjena kod pojedinih obilježja na salati, to boja folije više utječe na rast i razvoj salate.

Raspored i broj kloroplasta u listu

Uočeno je da se kod salate uzgajane na prirodnoj sunčevoj svjetlosti, kloroplasti nalaze na svim mjestima u listu te da su gusto raspoređeni u stanici (slika 4). Kod salate uzgajane pod plavom folijom, kloroplasti nisu pravilno raspoređeni u listu nego su gušći na gornjoj strani lista te u njegovom središnjem dijelu (slika 5). Kloroplasti u listovima salate uzgajane pod zelenom folijom su jednako raspoređeni i ima ih najviše (slika 6). Salata uzgajana pod crvenom folijom ima velik broj kloroplasta u stanicama, koji su gušće raspoređeni na gornjoj strani lista (slika 7). Kod salate uzgajane pod žutim svjetlom, kloroplasti su jednako raspoređeni u listu i stanici, ali su malobrojni (slika 8).



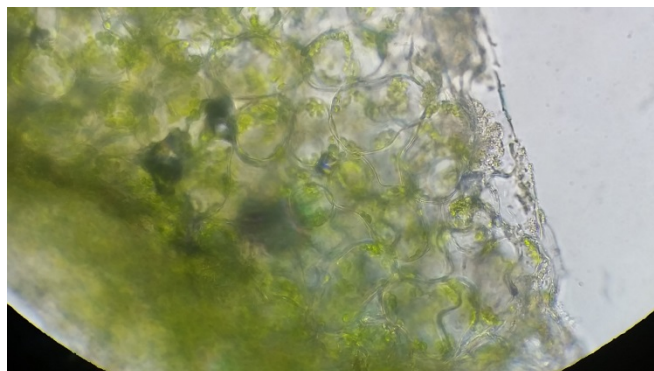
Slika 6 Kloroplasti u listu salate pod utjecajem prirodne sunčeve svjetlosti



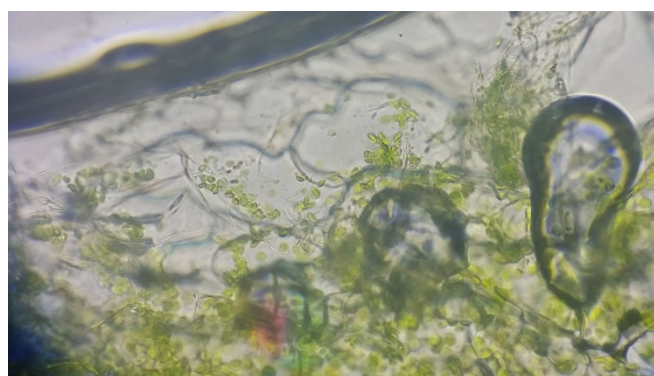
Slika 7 Kloroplasti u listu salate pod utjecajem plavog svjetla



Slika 8 Kloroplasti u listu salate pod utjecajem zelenog svjetla



Slika 9 Kloroplasti u listu salate pod utjecajem crvenog svjetla



Slika 10 Kloroplasti u listu salate pod utjecajem žutog svjetla

RASPRAVA

Rast i razvoj biljaka ovisi o mnogim vanjskim čimbenicima te se smatra da i različite boje svjetlosti kao vanjski čimbenici mogu utjecati na promjene u brzini rasta i razvoja. Do sada detaljno nije poznato kakav utjecaj imaju pojedine boje svjetlosti na rast i razvoj biljaka.

Naše istraživanje je provedeno na uzorcima salate koji su bili izloženi plavoj, zelenoj, žutoj, crvenoj te prirodnoj svjetlosti.

Cilj rada bio je uočiti razlike u rastu i obliku biljaka izloženih različitim bojama folija te odrediti broj i smještaj kloroplasta u listu.

Tijekom mjerenja bilježeni su: broj listova, duljina lista, širina lista.

Promjena broja lista je bila najveća kod salate na prirodnoj svjetlosti (6), a najmanja kod sadnica pod plavom folijom (2). Najveća promjena duljine lista uočena je kod salate pod zelenim svjetlom (2.5 cm). Kod sadnica salate uzgajane pod crvenom folijom je bila najveća promjena broja listova (7) i širine lista (2 cm). Dokazano je da su pod utjecajem crvene svjetlosti biljke porasle i do četiri puta brže nego li one koje su uzgajane na običnoj sunčevoj svjetlosti, a one koje su uzgajane pod zelenim staklom rasle su mnogo sporije (Moravek 2004).

U jednom provedenom istraživanju se navodi da je najbolje rezultate postigla biljka pod žutom folijom (Katie W. 2000) što se ne poklapa s našim istraživanjem jer su sadnice pod žutom folijom



imale najmanju promjenu veličine. U istraživanju se navodi da su biljke zdravije i veće ako su pod svjetlijim folijama.

U drugom istraživanju (Brennan 2010) je utvrđeno da je biljka pod crvenim svjetlom najviše narasla, što se poklapa s našim rezultatima.

Mikroskopiranjem poprečnog presjeka salate dokazalo se da najviše kloroplasta ima kod salate uzgajane pod zelenim svjetlom, ali nisu pravilno raspoređeni. Najpravilnije raspoređeni kloroplasti su kod salate na prirodnoj svjetlosti. Najlošije rezultate pružile su sadnice pod žutom folijom gdje je bilo malo kloroplasta, koji su bili neravnomjerno raspoređeni u listu.

Kloroplast je važan za fotosintezu što znači da će biljke koje imaju najviše kloroplasta biti kvalitetnije.

ZAKLJUČCI

Boja folije utječe na rast i razvoj salate.

Salata pod crvenom folijom daje najbolje rezultate - ima najveću promjenu broja listova i najveću promjenu širine listova.

Salata pod zelenom folijom ima najveću promjenu duljine listova te ima najviše kloroplasta.

Salata koja je rasla pod žutom folijom na svim djelovima istraživanja dala je najlošije rezultate, dok se crvena i zelena folija pokazala dobrim rezultatima

LITERATURA

Glasnik zaštite bilja. 2004. Zagreb, str. 54.

Anonymus 2015. Utjecaj boje svjetla na rast biljke. <http://hr.sci.biologija.narkive.com/849DDEZq/utjecaj-boje-svjetla-na-rast-biljke>, pristupljeno 15. veljače 2015.

Machoy P. 1999. Praktično vrtlarstvo. Leo Commerce, Rijeka, str. 138-144.

Poljoprivredna enciklopedija, 3. dio. 1973. Jugoslavenski leksikografski zavod, Zagreb, str. 94-95.

Parađiković N. 2002. Osnove proizvodnje povrća. Katava d.o.o., Osijek.

Bird R. 2000. Uzgoj povrća, voća i začinskog bilja u vrtu. Leo Commerce, Rijeka, str. 104-142.

Springer O. P., Pevalek –Kozlina B. 1997. Djelovanje okolišnih čimbenika na rast i razvitak biljaka, U Springer O. P. (ur.), Biologija 3: Fiziologija bilja. Profil, Zagreb, str. 252-254.

UTJECAJ DUŠIKOVOG (I) OKSIDA NA RAST I RAZVOJ VINSKIH MUŠICA

Lucia Marcan, 8. razred

Ani Paulišić, 8. razred

OŠ Vladimira Nazora, Pazin

Mentorica: Maja Curić

SAŽETAK

U prvom dijelu našeg rada, na različitim podlogama uzgajale smo vinske mušice, promatrale njihov razvojni ciklus i međusobno ih križale u nastojanju da dobijemo mutacije, koje smo kasnije proučavale. Imale smo dvije vrste hranjivih podloga koje su uz dodatak dušikova (I) oksida utjecale na život mušica. Dušikov (I) oksid proizvodile smo termičkom razgradnjom amonijevog nitrata te smo ga svakih sedam dana injekcijskom štrcaljkom ubrizgavale u podloge s mušicama. Svaki tjedan smo prebrojavale mušice kako bismo utvrdile brojnost, omjer broja mužjaka i ženki te približan vijek života mušica. Dušikov (I) oksid nije utjecao na njihov životni vijek. Kroz generacije, navedeni plin je ostavljao posljedice na mušice i njihov metabolizam poput mutacija i promjene omjera broja mužjaka i ženka. Saznale smo da dušikov (I) oksid u količini od 10 mL štetno djeluje na mušice, ali ipak pogoduje razvoju ženki, pogotovo na podlozi s šećerom i palentom, te u tim uvjetima dolazi do mutacija. U količini od 20 mL, dušikov (I) oksid stimulira mušice i povećava njihovu brojnost.

Ključne riječi: vinska mušica, dušikov (I) oksid, amonijev nitrat, termička razgradnja, metabolizam, mutacije, životni vijek, brojnost, mužjaci, ženke

UVOD

Vinska mušica je maleni kukac, dvokrilac, dužine 2-3 mm čije je znanstveno ime *Drosophila melanogaster*, Meigen 1830. Naziv je dobila prema latinskim riječima koje označavaju organizam koji voli rosu, vlagu i ima tamni zadak. Do sada je otkriveno preko 1200 vrsta roda *Drosophila*. Većina vrsta živi u tropskoj i suptropskoj zoni. Smatra se da *D. melanogaster* potječe iz indo-malajskog područja. Prateći čovjeka transportom voća, širi se u gotovo sva područja svijeta te postaje kozmopolit. Slab je letač. U toku dana udalji se najviše do 180 m (Papeš i sur. 1995).

Vinska je mušica u stvari, voćna, jer nju privlači opojan miris zgnječenih, slatkih plodova grožđa, smokve, rajčice i dr. Životni vijek joj je ljeti 5-8 dana, a zimi znatno duži. Voli toplinu (optimalno 24-27°C), ali ženka već i kod temperature od 13°C kontinuirano nosi do 2000 jajašca iz kojih se (izuzetno kroz 2 sata, a najčešće u roku od 24 sata) izlegu nove mušice. Izravno sunčevo svjetlo joj smeta i stoga se više razmnožava u prostorijama do kuda ono ne dolazi. Zbog brzog razmnožavanja, boje očiju i uočenih spolno vezanih svojstava, koristi se u genetskim znanstvenim pokusima (Papeš i sur. 1995).

Vinska mušica je pogodan organizam za upoznavanje bioloških procesa i pojava iz područja razmnožavanja, utjecaja bioloških faktora, promjenjivosti i nasljeđivanja. Njezino je ime u znanosti vezano uz razvoj klasične i suvremene genetike. Vinska mušica se koristi u genetičkim istraživanjima od 1909. godine kada ju je u svoje pokuse uveo Thomas H. Morgan. Od tada je ova neugledna mušica nezamjenjiv materijal u klasičnim i molekularnim genetičkim istraživanjima (Papeš i sur. 1995).

Dušikov (I) oksid odabrale smo zbog njegove svestranosti. On je bezbojan plin slatkastog mirisa koji djeluje opojno i podražuje na grčevit smijeh (naziva se rajski plin), a upotrebljava se kao anestetik.

Nastaje termičkim raspadom amonijevog nitrata, NH_4NO_3 . Ima linearnu molekulu N-O-N i pri sobnoj temperaturi gotovo je inertan (<http://www.pse.pbf.hr/hrvatski/elementi/n/spojevi.html#SPOJEVI>).

Sistematika i biologija vrste

Carstvo: Animalia (životinje)

Koljeno: Arthropoda (dvokrilci)

Razred: Insecta (kukci)

Podrazred: Pterygota (krilati kukci)

Red: Diptera (dvokrilci)

Podred: Brachycera

Nadporodica: Ephydroidea

Porodica: Drosophilidae

Rod: Drosophilla

Vrsta: *Drosophila melanogaster*

Vinska mušica, kao i svi kukci, ima tijelo sastavljeno od glave, prsa i zatka. Površinu tijela obavija hitinski oklop pokriven sitnim dlačicama i krupnijim čekinjama. Na glavi se nalaze usni organi, ticala i oči. Prsa se sastoje od tri kolutića. Iz svakog kolutića izlazi jedan par člankovitih nogu. Velika, ispružena krila vezana su za drugi kolutić. Iza njih, na zadnjem prsnom kolutiću, vide se mali izraštaji poput balončića, mahalice. To su ostaci nekadašnjeg drugog para krila nestalih tijekom evolucije. Zadak je sastavljen od 10 segmenata. U ženke se jasno uočava 7 kolutića, a u mužjaka 6. Ostali kolutići su izmijenjeni, izgrađuju strukture vezane za spolne organe (Papeš i sur. 1995).

Ženke su veće i zadak im završava šiljato. Na leđnoj strani vidi se 5-6 vodoravnih tamnih pruga. Na zatku mužjaka vidljive su dvije pruge i tamni obli završetak zatka (slika 1). Na prednjim nogama samo mužjaci imaju spolni češalj, vidljiv na malom povećanju kao crna točka.



Slika 1 Spolni dimorfizam vinske mušice mužjak (lijevo) i ženka (desno) (izvor: Papeš i sur. 1995)

Nakon razdoblja prilagođavanja u povoljnim uvjetima, tijekom prvoga dana dolazi do parenja i oplodnje. Mužjak započinje ples krilima. Ženku prepoznaje mirisom. Za vrijeme parenja mužjak je pričvršćen za zadak ženke, savijen u luku što traje oko dvadeset minuta. Broj snesenih jaja najviše ovisi o plodnosti linije i sastavu podloge. Maksimalan broj jaja ostavljaju na kulturi kvašćevih gljivica, staroj 24-36 sati. Starenjem kulture kvasca, broj jajašaca se smanjuje (Papeš i sur. 1995).

Razvitak vinske mušice odvija se kroz etape: jaje → ličinka → kukuljica → odrasli organizam. Embrionalni razvoj obuhvaća procese brazdanja i razvoj ličinke u jajetu. U kukuljici se odvija potpuna

preobrazba, metamorfoza. Vršiti se razgradnja ličinke, a izgrađuju se tkiva i organi kukca (Papeš i sur. 1995).

Obrazloženje teme

Uvijek smo se zanimali za biologiju i naš okoliš. Na jesen, kad počinje berba voća, posebice grožđa, primijetile smo mušice o kojima smo željele više saznati. Istraživanjem internetskih stranica i proučavanjem literature zaključile smo da je ta mušica, vinska mušica - jedan od najboljih modela za proučavanje u genetici. Postoji niz razloga zbog čega je vinska mušica modelni organizam u genetičkim istraživanjima (Papeš i sur. 1995):

- Malena je (dužine oko 3 mm) i lako se uočavaju mutacije.
- Lako se uzgaja u laboratoriju i to u velikom broju.
- Danas je dostupna velika količina informacija o vinskoj mušici, zato jer se već čitavo stoljeće koristi kao modelni organizam.
- Ima kratak životni ciklus - vrijeme koje je potrebno da se proizvede nova generacija odraslih jedinki vinskih mušica je oko 2 tjedna (10 dana u optimalnim uvjetima).
- Veliki broj potomaka - ženka tijekom svog života može položiti stotine jajašaca, pa istraživač dobije velik broj jedinki što čini statističku obradu podataka lakšom i pouzdanom.
- Embrij mušice razvija se izvan tijela i može se lako proučavati u svakoj fazi razvoja.

Dušikov (I) oksid koristi se za anesteziju u stomatologiji od 1844. godine, danas se uz to još i upotrebljava kao potisni plin u raspršivačima slatkoga vrhnja u pjenu.

Liječnici i stomatolozi već dugo smatraju da je sigurno farmakološko sredstvo. Ipak, neki dokazi upućuju da prekomjerno i/ili dugotrajno korištenje ovog plina može oštetiti koštano srž i živčani sustav, ometati djelovanje vitamina B-12, te da može oštetiti plod u trudnoći (<http://www.justsayn2o.com/nitrous.dangers.html#oxygendep>).

Kratkotrajna uporaba dušikovog (I) oksida dovodi do euforije i osjećaja ugođe, zato se već od 1799. godine bilježi uporaba ovog plina u rekreativne svrhe. Prema zadnjim istraživanjima čak pola milijuna mladih Britanaca ga koristi na festivalima i koncertima (http://en.wikipedia.org/wiki/Nitrous_oxide#Medicine).

Ipak, najnovija istraživanja ukazuju da ovaj plin ima još neistraženi potencijal. Psihijatri i anesteziolozi s medicinskog fakulteta sveučilišta u Washingtonu, St. Louis, utvrdili su da se taj „rajski plin“ pokazao uspješnim u liječenju teških oblika depresije, otpornih na druge oblike terapije. Naime, utvrdili su da je kod dvije trećine ispitanika došlo do poboljšanja nakon inhaliranja ovog plina, koje se zadržalo čak i do tjedan dana, a da pritom kod nijednog pacijenta nisu primijetili nikakva zdravstvena pogoršanja (<http://www.plivazdravlje.hr/vijesti/clanak/26027/Rajski-plin-protiv-depresije.html>).

Cilj ovog istraživanja je utvrditi utječe li dušikov (I) oksid na razvoj vinskih mušica, njihov životni vijek i razvoj spola (tj. hoće li se razviti više mužjaka ili ženki) i brojnost. Pretpostavljamo da će se veći broj jedinki razviti na podlozi s kvascem jer se ličinke hrane fermentiranim šećerom te da će dušikov (I)

oksid skratiti životni vijek mušica kao i njihovu brojnost. Vjerojatno će doći i do nerazmjera broja mužjaka i ženki.

MATERIJAL I METODE RADA

U prvom dijelu našeg rada na različitim podlogama uzgajale smo vinske mušice, promatrale njihov razvojni ciklus i međusobno ih križale u nastojanju da dobijemo mutacije, koje bismo kasnije mogle proučavati. Imale smo dvije vrste hranjivih podloga u šest staklenki (slika 2 i slika 3). Prva podloga sadržavala je palentu i šećer. Druga podloga sadržavala je palentu, šećer i kvasac. U dio staklenki ubrizgavale smo dušikov (I) oksid u raznim volumenima. Dodatak + znači da u podlozi staklenke ima kvasca. Fermentacijom šećera nastao je alkohol i ugljikov dioksid.



Slika 2 Staklenke s podlogama s kvascem



Slika 3 Staklenke s podlogama bez kvasca

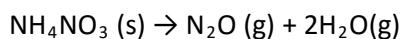
Tablica 1 Sastavi podloga

Staklenka br.	Sastav podloge	Volumen dušikovog (I) oksida
(kontrola)	palenta i šećer	0 mL
2.	palenta i šećer	10 mL
3.	palenta i šećer	20 mL
1+ (kontrola)	palenta, šećer i kvasac	0 mL
2+	palenta, šećer i kvasac	10 mL
3+	palenta, šećer i kvasac	20 mL

U staklenke 1 i 1+ nismo ubrizgavale dušikov (I) oksid, vinske mušice koje se razvijaju u njima predstavljaju kontrolnu vrijednost broja jedinki, omjera mužjaka i ženki, duljine života te pojave mutacija. U ostale staklenke dodale smo određene volumene dušikovog (I) oksida prema tablici 1. Sve eventualne promjene u broju jedinki, omjeru broja mužjaka i ženki, duljini života kao i pojava mutacija na ovim podlogama u odnosu na podloge 1 i 1+ možemo pripisati utjecaju dušikovog (I) oksida.

Istraživanje smo ponovile kroz nekoliko generacija vinskih mušica kako bismo dobili što pouzdaniju statističku obradu podataka. Izračunale smo srednju vrijednost životnog vijeka u pojedinim staklenkama, kao i minimalne te maksimalne vrijednosti.

Dušikov (I) oksid proizvodile smo termičkom razgradnjom amonijevog nitrata NH_4NO_3 (slika 4). Budući da je na sobnoj temperaturi gotovo inerten, hvatale smo ga u Erlenmeyereovu tikvicu (slika 5) te injekcijskom štrcaljkom ubrizgavale u staklenke.



Slika 4 Dobivanje dušikovog (I) oksida termičkom razgradnjom amonijevog nitrata, NH_4NO_3



Slika 5 Erlenmeyerovala tikvica s uzorkom dobivenog dušikovog (I) oksida



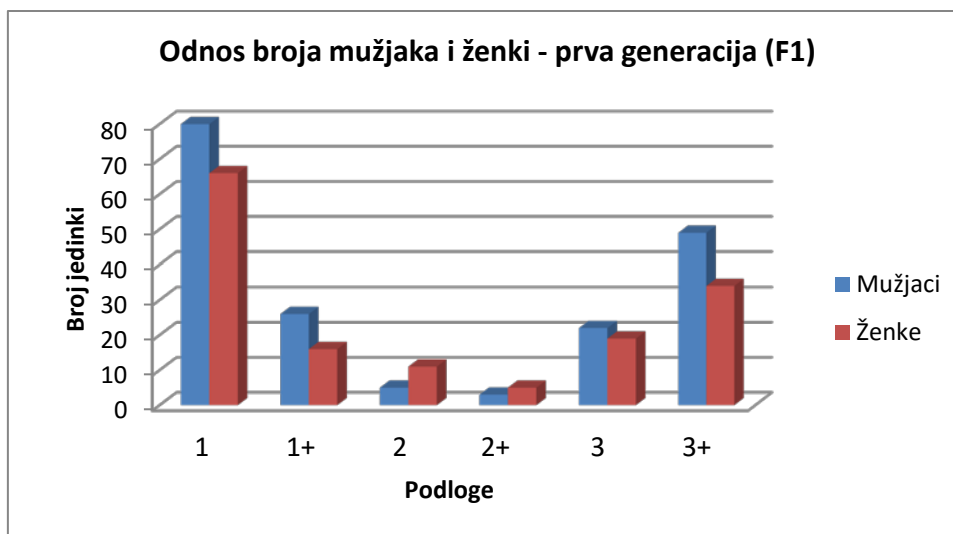
Slika 6 Podloga s različitim stadijima vinskih mušica

Svaki tjedan smo prebrojavale vinske mušice kako bismo utvrdile brojnost, omjer broja mužjaka i ženki te približan vijek života mušica. Slika 6. prikazuje različite stadije vinskih mušica.

REZULTATI

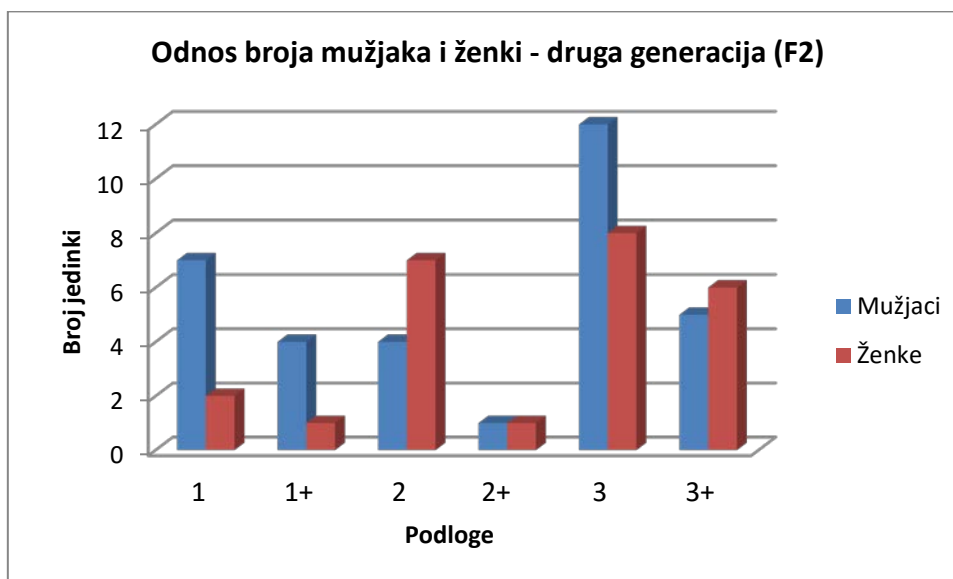
Odnos broja mužjaka i ženki na hranjivim podlogama kroz generacije

Na prvoj podlozi (kontrola bez kvasca) prve generacije, razvilo se mnogo jedinki mušica, dok ih je u ostalima bilo znatno manje (slika 7).



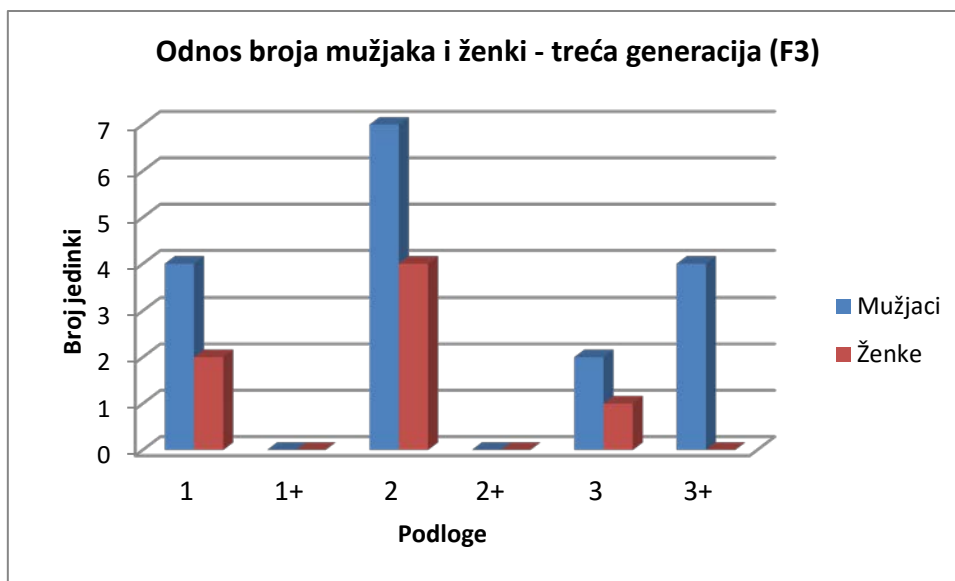
Slika 7 Grafički prikaz odnosa broja mužjaka i ženki u prvoj generaciji

Iz slike 8. vidljivo je da u drugoj generaciji ima više mužjaka nego ženki te da je najveći broj jedinki prisutan na trećoj podlozi. Najveći pad broja jedinki u odnosu na prethodnu generaciju, zabilježen je na prvoj podlozi.



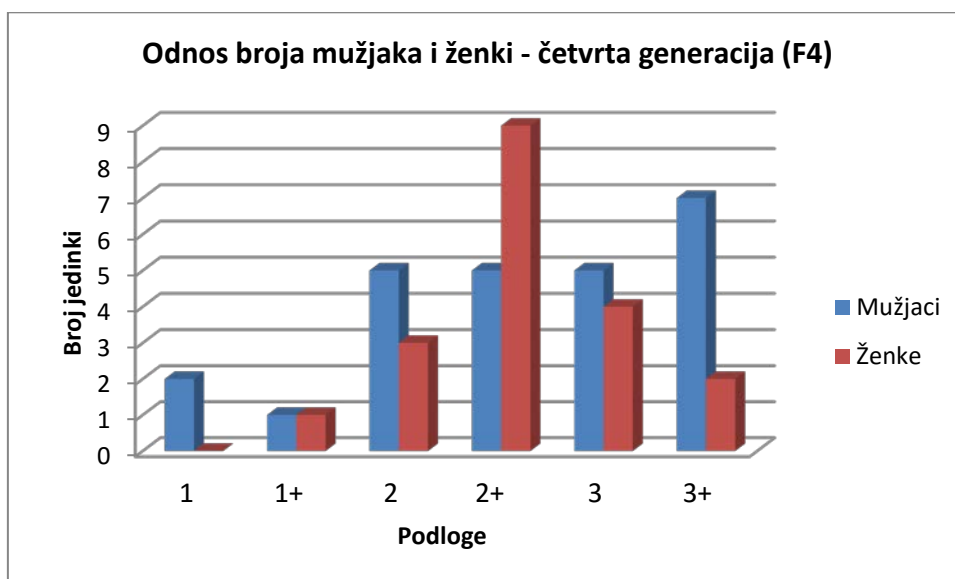
Slika 8 Grafički prikaz odnosa broja mužjaka i ženki u drugoj generaciji

U trećoj generaciji se znatno smanjio broj jedinki na svim podlogama (slika 9).



Slika 9 Grafički prikaz odnosa mužjaka i ženki u trećoj generaciji

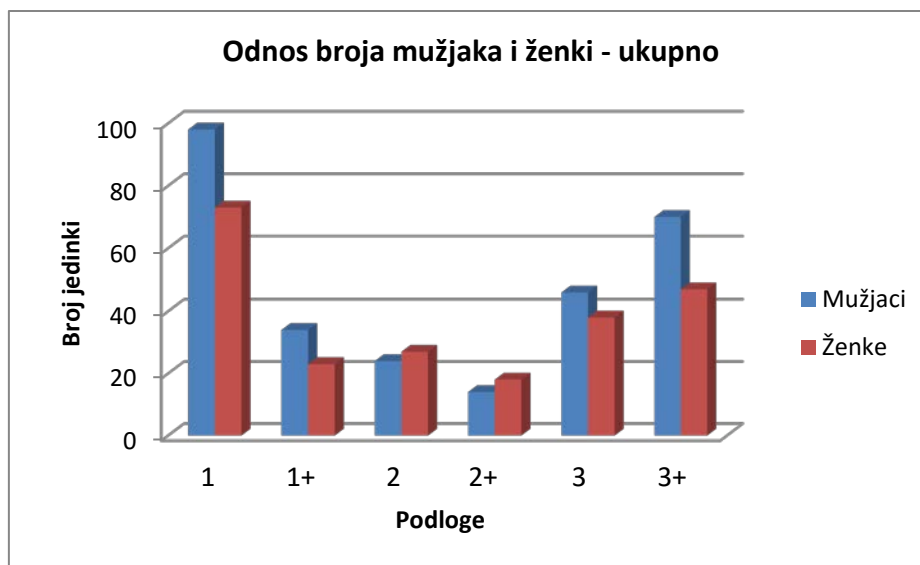
Nakon raspodjele preostalih mušica iz treće generacije, broj jedinki se povećao na većini podloga (slika 10).



Slika 10 Grafički prikaz odnosa broja mužjaka i ženki u četvrtoj generaciji

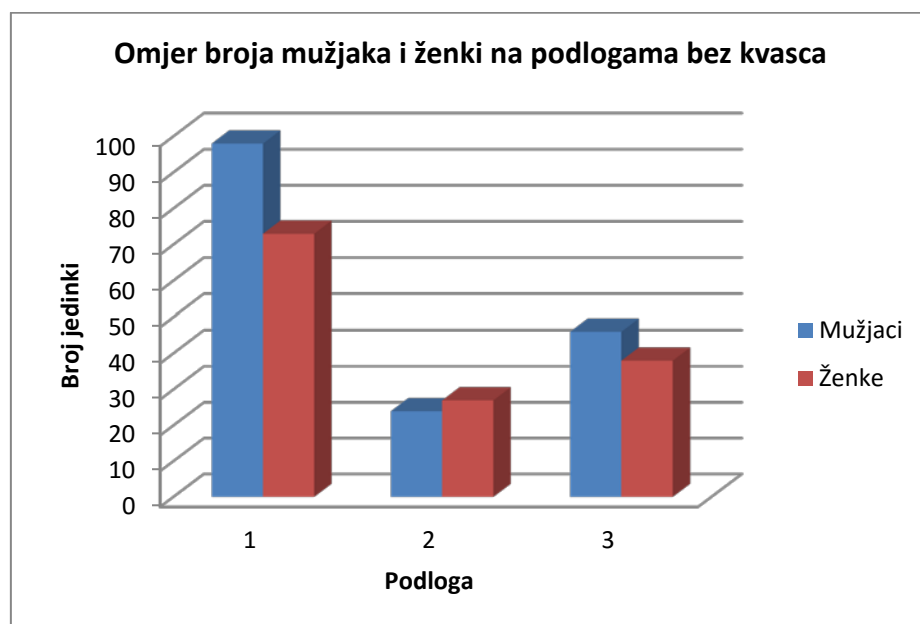
Omjer ukupnog broj mužjaka i ženki na dvije podloge

Na većini podloga dominiraju mužjaci. Na podlozi 1, puno je više jedinki zbog brojnosti prve generacije (slika 11), na podlogama s većom koncentracijom dušikova (I) oksida više je mužjaka, dok je u podlogama s manjom koncentracijom navedenog plina više ženki.



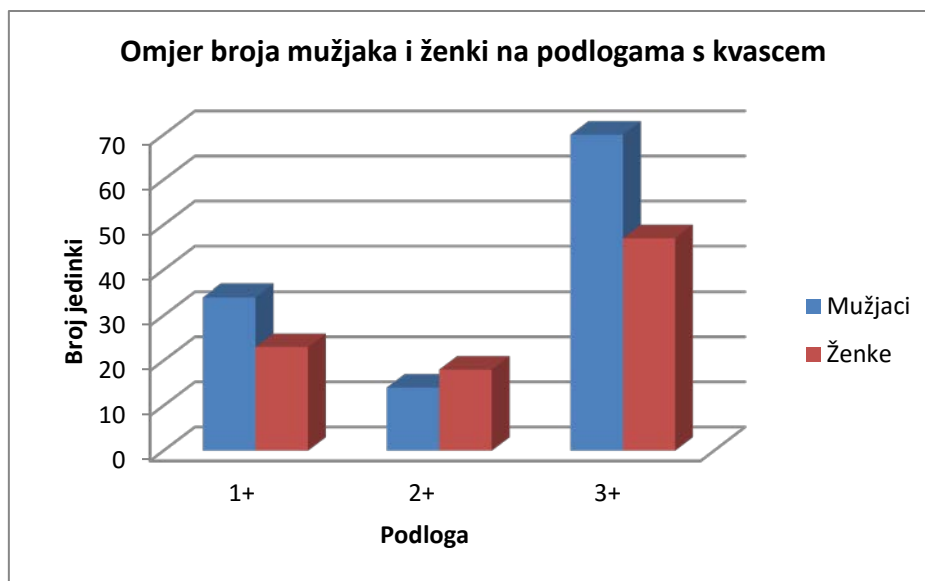
Slika 11 Grafički prikaz odnosa broja mužjaka i ženki sveukupno

Na podlogama bez kvasca sveukupno je više mužjaka nego ženki (slika 12).



Slika 12 Grafički prikaz omjera broja mužjaka i ženki na podlogama bez kvasca

Na podlogama s kvascem (slika 13) uz dodatak veće koncentracije dušikova (I) oksida brojnost jedinki je veća, pogotovo mužjaka (podloga 3+).



Slika 13 Grafički prikaz omjera broja mužjaka i ženki na podlogama s kvascem

Mutacije

Na podlozi bez kvasca koja je sadržavala dvostruku količinu dušikova (I) oksida, u trećoj generaciji, pojavio se mužjak s crnim očima i crnim tijelom (slika 14). Jedinka s mutacijom je znatno manja od divljeg tipa mušice (slika 15).



Slika 14 Vinska mušica s mutacijom



Slika 15 Usporedba divljeg tipa vinske mušice (dolje) i mušice s mutacijom (gore)

Na podlozi 3 pojavila se i mutirana jedinka s izduženim zatkom (slika 16). Učestalost mutacija na ovoj podlozi iznosi 2,6%.



Slika 16 Vinska mušica s izduženim zatkom

Na podlozi bez kvasca s jednostrukim volumenom dušikova (I) oksida, u četvrtoj generaciji, pojavila se mutirana jedinka s tamnim tijelom (eng. ebony) i oštećenim krilom.



Slika 17 Vinska mušica s oštećenim krilom i tamnim tijelom

Na podlozi bez kvasca s jednostrukim volumenom dušikova (I) oksida razvila se jedinka s povećanim zatkom.



Slika 18 Vinska mušica s debljim zatkom



RASPRAVA

Podloga 1 (kontrola) sadržavala je palentu i šećer te u nju nismo dodavali dušikov (I) oksid. Na njoj se razvilo 169 jedinki (96 mužjaka i 73 ženke). U prvoj generaciji, od ukupnog broja jedinki u svim generacijama na toj podlozi, razvilo se 83% mužjaka i 90% ženki, što je izuzetno velik broj. Kasnije se kroz generacije taj broj drastično smanjio, vjerojatno zbog manje plodnosti roditeljskih parova u sljedećim generacijama.

Podloga 2 sadržavala je palentu i šećer te smo u nju, svakih sedam dana, dodavali 10 mL dušikova (I) oksida. Na toj se podlozi razvilo 43 jedinke (19 mužjaka i 24 ženke). Broj jedinki na toj podlozi smanjen je za 3,93 puta u odnosu na podlogu 1, kontrolu. Primjećujemo da se samo na toj podlozi razvilo više ženki nego mužjaka. Ovaj sastav podloge i omjer dušikova (I) oksida više pogoduje razvoju ženki, jer se razvilo 1,26 puta više ženki. Na ovoj podlozi pronašli smo dvije mutacije: jedinka s tamnim tijelom (slika 15) i jedinka s povećanim zatkom (slika 16).

Učestalost mutacija na ovoj podlozi iznosi 4,65%. Rezultati su u skladu s našom pretpostavkom da će se broj mušica u ovom slučaju smanjiti. Pretpostavljamo da je došlo do štetnog učinka dušikova (I) oksida, u toj količini od 10 mL, na mušice. U prilog tome dodaju se i mutacije nađene na ovoj podlozi kao i promjena u odnosu broja mužjaka i ženki. Manja količina ovog plina pogoduje većem razvoju ženki. To je u skladu s istraživanjima koje su proveli Vigne i Frelin (2010), koji navode da dijetalni proteini ubrzavaju starenje mužjaka vinske mušice i smanjuju njihov opstanak u uvjetima hipoksije (nedostatka kisika) što dovodi do povećanja broja ženki na hranjivim podlogama.

Podloga 3 sadržavala je palentu i šećer te smo svakih sedam dana u nju dodavali dvostruku količinu dušikova (I) oksida (20 mL). Na ovoj podlozi razvilo se 75 jedinki (41 mužjak i 34 ženke). Broj jedinki mušica smanjen je 2,25 puta u odnosu na podlogu 1, kontrolu, ali i povećan za 1,75 puta u odnosu na podlogu s dvostruko manjom količinom plina. Rezultati nisu u skladu s našim očekivanjima da će dvostruka doza plina štetnije djelovati na vinske mušice i još više smanjiti njihovu brojnost. Dogodilo se upravo suprotno. Veća količina dušikova (I) oksida pogoduje brojnosti mušica i na neki način ih stimulira. Potrebna su daljnja istraživanja da se utvrdi razlog ove neočekivane pojave. Na ovoj podlozi također su se pojavile dvije mutacije: mužjak s crnim očima (slika 14) i jedinka s izduženim zatkom (slika 16). Učestalost mutacija na ovoj podlozi iznosi 2,6%, manje nego na podlozi s dvostruko manjom količinom plina (podloga 2).

Podloga 1+ (kontrola) sadržavala je palentu, šećer i kvasac te u nju nismo dodavali dušikov (I) oksid. Na njoj se razvilo 55 jedinki (33 mužjaka i 22 ženke), 3 puta manje nego na podlozi bez kvasca. Ovaj rezultat također odstupa o dosadašnjih istraživanja i naših očekivanja. Iz literature je poznato da maksimalan broj jaja ostavljaju na kulturi kvašćevih gljivica, staroj 24-36 sati, a starenjem kulture kvasca broj jajašaca se smanjuje (Papeš i sur. 1995).

Podloga 2+ sadržavala je palentu, šećer i kvasac te smo u nju dodavali, svakih sedam dana, 10 mL dušikova (I) oksida. Na toj podlozi razvilo se samo 18 jedinki, jednak broj mužjaka i ženki. Rezultati su slični rezultatima s podloge 2 koja se razlikovala od ove samo po odsutnosti kvasca.



Podloga 3+ sadržavala je palentu, šećer i kvasac te smo u nju dodavali, svakih sedam dana, dvostruku količinu dušikova (I) oksida (20 mL). Na njoj se razvilo 108 jedinki (63 mužjaka i 45 ženki), što je bilo gotovo dvostruko više u odnosu na kontrolu (podloga 1+). Ovaj rezultat nas je najviše iznenadio. Čini se da dvostruka količina dušikovog (I) oksida u kombinaciji s podlogom koja sadržava kvasac još više stimulira mušice. Potrebna su daljnja istraživanja da se utvrde razlozi zašto veća količina dušikovog (I) oksida u kombinaciji s kvascem ovako djeluje na mušice, te ima li to veze s ugljikovim dioksidom koji nastaje fermentacijom šećera. Oba plina (dušikov (I) oksid i ugljikov dioksid) teža su od zraka te smanjuju količinu kisika u staklenkama. Vigne i Frelin (2010) opisuju brojne promjene na mušicama, kao i promjene u ponašanju i prehrani zbog uvjeta hipoksije.

Svaki smo tjedan prebrojavali mušice, određivali njihov spol i brojnost. Životni vijek u prosjeku je trajao od 3 do 4 tjedana i nismo primijetili nikakav utjecaj dušikova (I) oksida.

U trećoj generaciji mušica došlo je do naglog mortaliteta mušica, zbog velike promjene životnih uvjeta, tijekom zimskih praznika došlo je do gašenja grijanja u školi, zbog čega su mušice gotovo izumrle (slika 9). Na podlogama 1+, 2+ nije bilo preživjelih jedinki, dok su na ostalima dominirali mužjaci. Iz toga zaključujemo da mužjaci bolje podnose hladnoću. Prema Matoničkinu i Erbenu (1994), životni vijek mušica iznosi ljeti 5-8 dana, a zimi je znatno duži. Optimalna temperatura za rast i razvoj vinske mušice je 24-27°C (Papeš i sur. 1995).

ZAKLJUČCI

Dušikov (I) oksid je djelovao na metabolizam vinskih mušica i iz generacije u generaciju mijenjao njihove osobine i sposobnosti. U prilog tome dodajemo i mutacije pronađene na podlogama u koje smo ubrizgavali plin.

Sastav podloge od palente i šećera te 10 mL dušikova (I) oksida više pogoduje razvoju ženki.

U količini od 10 mL, dušikov (I) oksid štetno djeluje na mušice.

Veća količina dušikova (I) oksida pogoduje brojnosti vinskih mušica i na neki ih način stimulira te su potrebna daljnja istraživanja što je uzrok ovoj pojavi.

Životni vijek u prosjeku je trajao od 3 do 4 tjedana i nismo primijetili nikakav utjecaj dušikova (I) oksida.

LITERATURA

Anonymus 2014. Dušik, N – Spojevi, dobivanje i uporaba. Periodni sustav elemenata.

<http://www.pse.pbf.hr/hrvatski/elementi/n/spojevi.html#SPOJEVI>, pristupljeno 21.10.2014.

Anonymus 2014. Some of the Dangers of Nitrous Oxide. Dangers of Nitrous Oxide.

http://www.justsayn2o.com/nitrous.dangers.html#oxygendep_1, pristupljeno 22.10.2014.

Anonymus 2014. Recreational use. Nitrous Oxide. http://en.wikipedia.org/wiki/Nitrous_oxide#Medicine, pristupljeno 22.10.2014.

Anonymus 2014. Rajski plin protiv depresije. Pliva zdravlje. <http://www.plivazdravlje.hr/vijesti/clanak/26027/Rajski-plin-protiv-depresije.html>, pristupljeno 22.10.2014.

Matoničkin I., Erben R. 1994. Opća zoologija, Školska knjiga, Zagreb, str. 282-290.

Papeš D., Pavlica M., Bessendorfer V. 1995. Praktikum iz genetike. Interna skripta. Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

**Utjecaj dušikovog (i) oksida na rast i razvoj vinske mušice**Mentor:
Curić M.

Vigne P., Frelin C. 2010. Hypoxia modifies the feeding preferences of *Drosophila*. Consequences for diet dependent hypoxic survival. BMC Physiology. <http://www.biomedcentral.com/1472-6793/10/8>, pristupljeno 2.3.2015.

UTJECAJ ELEKTROMAGNETSKOG ZRAČENJA MOBITELA I RAČUNALA NA KLIJAVOST I RAST PŠENICE *Triticum* sp.

Ivana Bosančić, 8. razred
Iva Prosenečki, 8. razred

OŠ Kustošija, Zagreb
Mentor: Đurđica Patafta

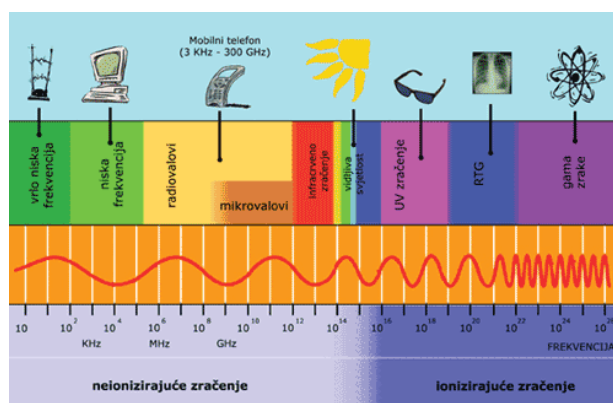
SAŽETAK

Ciljevi istraživanja su bili: 1. ispitati kakvo je djelovanje elektromagnetskog zračenja mobitela i računala na klijavost pšenice *Triticum* sp.; 2. ispitati kakvo je djelovanje elektromagnetskog zračenja mobitela i računala na rast mladih izdanaka pšenice *Triticum* sp.; 3. uočiti pojavnost različitih promjena na mladim biljkama koje nisu uobičajene kod zdravih u normalnim uvjetima (kontrolna skupina). Sjemenke pšenice su posijane, podvrgnute zračenju računala, mobitela, a jedna skupina je bila i kontrolna. Rezultati rada pokazuju da elektromagnetsko zračenje računala i mobitela pospješuje klijavost i rast pšenice *Triticum* sp. Najzdravije i najviše biljke su one koje su bile podvrgnute zračenju uređaja uz računalo, slijede potom biljke izložene zračenju mobitela i najniže rastom su bile neozračene biljke. Na biljkama nisu uočene neuobičajene promjene, a koje bi se smatrale pokazateljem mutacija. Ozračene biljke i one bez zalijevanja ostaju duže zdravijeg izgleda, zelenije su, za razliku od neozračenih biljaka jer vjerojatno u svoje organe pohranjuju zračenja iz uređaja.

Ključne riječi: *Triticum* sp., elektromagnetsko zračenje, mobilni, računalo

UVOD

Današnji svijet ne može se više zamisliti bez brzog i točnog protoka i obrade informacija, a sve je temeljeno upravo na elektromagnetskom zračenju. Takav napredak ima za posljedicu elektromagnetsko zagađenje. Najveća opasnost je što ga se ne može osjetiti, a negativne zdravstvene posljedice su vidljive tek nakon dužeg vremenskog perioda. S druge strane, sunčevo elektromagnetsko zračenje je važno za fotosintezu ili npr. za sintetiziranje vitamina D kad se čovjek izloži Suncu. Svako se tijelo sastoji od atoma. Prilikom grijanja nekog tijela, u njega se ulaže energija i atomi počinju titrati jer prelaze u pobuđena stanja (energija im se povećava). To znači da sva ugrijana tijela zrače elektromagnetske valove (Funk i sur. 2007). Elektromagnetski spektar sadrži cijeli niz grupa zračenja koji se razlikuju po frekvenciji vala: od ekstremno niskih i vrlo niskih frekvencija, preko radio frekvencija i mikrovalova pa sve do infracrvenog svjetla, vidljivog dnevnog svjetla, ultraljubičastog svjetla (UV) te na kraju gama zračenja (slika 1). Valovi elektromagnetskog zračenja prenose podatke s različitih uređaja, a informacije se obično kodiraju u odgovarajućim uređajima na razne načine u tzv. valove nositelje koji se onda pretvaraju u npr. sliku, zvuk i dr. (Anonymus 2014). Iako službena medicina opovrgava i umanjuje opasnost od raznih električnih naprava, neosporna je činjenica da, usporedo s rastom broja mobitela i ostalih elektroničkih uređaja, raste i broj sve težih oboljenja kao što su tumori i to kod sve mlađe populacije. Znanstvenici Landauova sveučilišta u Njemačkoj su proveli opsežno istraživanje utjecaja elektromagnetskog zračenja bežičnih kućnih telekomunikacijskih uređaja na pčelinje zajednice i košnice.



Slika 1 Elektromagnetski spektar zračenja

Pokazali su trostruko veću učestalost raspada pčelinjih zajednica izloženih zračenju nego kod kontrolnih zajednica nad kojima nije primjenjivano zračenje. Također, košnice zračenih rojeva imale su smanjeno saće za oko 20%. Razina mikrovalnog zračenja, kakvoj su inače izloženi milijuni ljudi, ima iznenađujuće posljedice na povratak pčela u košnicu. One se ili ne vrate, ili jako kasne (Kimmel i sur. 2007). Kineski su znanstvenici dokazali da elektromagnetska zračenja utječu na koštane stanice štakora (Zhang i sur. 2007).

Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) smatra da su valovi koje emitira WI-FI "vjerojatno kancerogeni". Prema IARC-u, rizik od raka za ovu vrstu zračenja je stoga sličan onom od insekticida DDT-a, koji je zabranjen (Anonymus 2014).

Brazilski su znanstvenici istraživali su utjecaj mikrovalne energije na aktivnost enzima oksidaze i peroksidaze čajne biljke mate koji uzrokuje smeđu boju listova. Ustanovili su da lišće nakon djelovanja mikrovalne energije, ima intenzivniju zelenu boju, jer zračenje usporava aktivnost oksidaze i peroksidaze (Ceni i sur. 2008).

Neke biljke kao spatifilum, filodendron i i fikus upijaju elektromagnetsko zračenje i smatra se da ih je dobro postaviti blizu uređaja. Metaboličkim procesima pretvaraju ga u oblik energije za rast. Što više apsorbira zračenja, to bolje raste, a time uklanja i štetno zračenje. Rezultatima istraživanja na Wageningen sveučilištu dokazali su da Wi-Fi signali mogu oštetiti obližnje drveće, uzrokujući ozbiljne anomalije na kori i listovima (Adams 2010).

Istraživačkim su radom danske su učenice primjetile da sjemenke biljaka grbice (*Lepidum sativum*) ozračene Wi-Fi ruterima uopće nisu proklijale, nasuprot onih koje nisu bile zračene. Povod za istraživanje bila je spoznaja ovih djevojčica da zaspavši s mobitelom kraj glave imaju problem s pažnjom tijekom nastave idućega dana. Spoznale su da zračenje mobilnih uređaja ima itekako štetan utjecaj na razvoj organizama (Anonymus 2013).

Svatko tko brine o svom zdravlju bi trebao povesti računa o tome da mobitel barem tijekom noći ne bude u njegovoj blizini. Osim toga svakako bi trebalo isključiti i računala u prostoriji u kojoj se spava.

Obrazloženje teme



Prema zakonima Europske unije važno je pratiti količinu zračenja kojem je određeno područje izloženo. Tako se npr. može pročitati na internetskim stranicama ako se u uredu nalazi standardni model računala sa LCD ili LED monitorom (sa znatno manjim zračenjem), kao i sa ostalom opremom poput fotokopirnog uređaja, pisača, bežične mreže i dr., tada na čovjeka štetno djeluje elektromagnetsko zračenje, koje za kratko vrijeme utječe na organizam. Prvi simptomi su nagla pojava nervoze i iritabilnosti, nemir i sl. Mikrovalna bežična komunikacijska tehnologija kao mobiteli, računala, laptopi, tableti, e-readeri, bežični kućni telefoni, bežični ruteri (Wi-Fi) i ostale naprave („pametni“ strujomjeri) koje koriste bežičnu komunikaciju (Wi-Fi ili Bluetooth), su posebno štetni jer rade s mikrovalovima koji imaju svojstvo da duboko prodiru u ljudsko tkivo i izazovu ogromnu štetu. Većinu energije apsorbira koža i površina tkiva (Funk i sur. 2007).

Elektromagnetska polja visokih frekvencija čovjekovo tijelo apsorbira, a energija polja se pretvara u toplinu, što dovodi do zagrijavanja tkiva. Negativna djelovanja VF zračenja mogu nastati kada se pojedini dijelovi tijela ili cijelo tijelo zagrije za više od 1°C. Kod prekoračenja te granične vrijednosti i tijekom duljeg razdoblja, mogu nastati smetnje u izmjeni tvari, u živčanom sustavu te u očima. (Klaić 2014). Proces udvostručavanja DNA, prepisivanje genske šifre na RNA te stvaranje bjelančevina mogu biti poremećeni zračenjem.

Isto smo tako svjedoci kako su u porastu i različita maligna oboljenja koja sve više zahvaćaju ne samo odrasle već i mlađu populaciju. Osobiti problem predstavlja i činjenica kako većina mladih osoba spava s mobitelom u blizini glave. Mobilni je omiljena budilica, fotoaparat, brzi pogled na sva pitanja koja ih muče. Većina mladih mobitele nose u džepovima hlača. Računalo je dodatni problem jer uz svoje zračenje kao aparata, uzima se ima još i nekoliko dodatnih uređaja koji imaju svoje kablove, a svi oni se nalaze na jednom mjestu. Stoga se upravo na tom mjestu koncentrira veliko električno polje koje štetno djeluje na naše tijelo. Budući da smo neke simptome uočili na vlastitom organizmu kao što su nervoza, manjak koncentracije pri učenju, pečenje očiju, pretjerani umor ili čak i nesanica pri dužem boravku uz računalo ili mobitel, došli smo na ideju ispitati djelovanje elektromagnetskog zračenja na nekim živim stanicama u rastu i razvoju. Za istraživanje smo odabrali sjemenke pšenice koje brzo i lako klijaju i kojima se može lako pratiti rast i razvoj izdanaka.

Ciljevi našeg istraživanja su bili:

1. ispitati kakvo je djelovanje elektromagnetskog zračenja mobitela i računala na klijavost pšenice *Triticum* sp.
2. ispitati kakvo je djelovanje elektromagnetskog zračenja mobitela i računala na rast mladih izdanaka pšenice *Triticum* sp.
3. uočiti pojavnost različitih promjena na mladim biljkama koje nisu uobičajene kod zdravih u normalnim uvjetima (kontrolna skupina).

Hipoteze su bile:

1. Klijavost sjemenki i rast izdanaka pšenice bit će različit s obzirom na vrstu zračenja. Biljke izložene zračenju monitora i ostalih uređaja uz računalo te mobitela trebale bi slabije klijati, a izdanci bi trebali biti manji.

2. Najbolji rast trebao bi biti kod onih biljaka koje nisu izložene elektromagnetskom zračenju uređaja, dakle kod kontrolne skupine.

3. Elektromagnetsko zračenje negativno će utjecati na daljnji rast mladih biljaka i na njima će se moći uočiti neke neuobičajene promjene na listovima, korijenčićima i sl. kao djelovanje mutacijskih promjena na DNA molekulama u jezgrama stanica.

MATERIJAL I METODE RADA

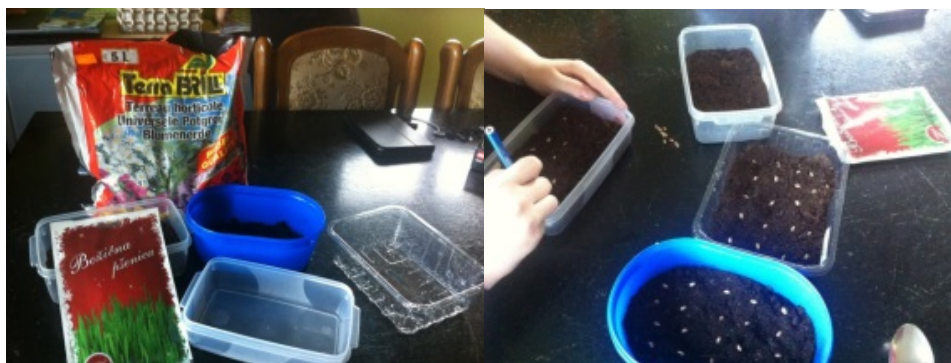
Istraživanje je provedeno tijekom prosinca 2014. godine, te siječnja 2015. godine, a kao provjeru dobivenih rezultata istraživanje je ponovljeno u veljači 2015. godine.

Kao biljke za istraživanje bile su odabrane sjemenke pšenice *Triticum* sp. Razlog za odabir vrste je bilo poznavanje brzine klijavosti biljke.

Sijanje sjemenki pšenice

Za sijanje sjemenki potreban nam je bio sljedeći pribor (slika 2):

zemlja za cvijeće Terra brill, šest posudica za sijanje sjemenki, lopatice, sjemenke pšenice (Semenarna Ljubljana d.d.), odstajala vodovodna voda za zalijevanje biljaka.



Slika 2 Pribor za sijanje

Slika 3 Sijanje sjemenki

U prvom pokusu je u svaku od tri posudice posijano dvadeset sjemenki pšenice. Ukupno je u prvom pokusu promatrano šezdeset posijanih sjemenaka pšenice koje su raspoređivane u posudice (slika 3).

Smještaj posudica na mjesto promatranja

Za klijanje i rast biljaka bilo je važno pronaći odgovarajuća mjesta.

Posudice s biljkama smještene su unutar obiteljske kuće gdje su bile jednako tretirane s obzirom na temperaturu (23–24°C), svjetlost i količinu vlage. Biljke su zalijevane odstajalom vodovodnom vodom.

POSUDICA 1. – postavljena je u prostoriju u kojoj se ne nalaze uređaji, mobiteli niti računalno. Ona je kontrolna i prema njoj su uspoređivane sve ostale sjemenke (slika 4).



Slika 4 Posijane sjemenke pšenice – kontrolna skupina sjemenaka

POSUDICA 2. – postavljena je uz računalno procesora i3 intel, memorija Kingmax, hard disk WD. Uz njega se nalazi pisač HP laser jet 1005, monitor tipa AOC (slika 5). Te su sjemenke bile izložene elektromagnetskom zračenju monitora, pisača, kutiji PC-a kad god je bilo uključeno računalno. Kad je računalno bilo isključeno, posudica je postavljana uz posudicu 1., kako bi tijekom većine dana bili osigurani jednaki uvjeti za klijanje, rast i razvoj biljaka.



Slika 5 Posijane sjemenke pšenice – sjemenke pod utjecajem računala, pisača, kutije računala

POSUDICA 3. – postavljena je na mjesto na kojem su svi ukućani ostavljali svoje uključene mobitele (iPhone 4, Sony Xperia x8, Samsung s3 mini, Sony Z2). Nalazila se u prostoriji čiji je prozor gledao na istu stranu kao prozor na kojoj su se nalazile posudice 1. i 2. Kako bi izvor zračenja bio još veći, svakodnevno su se u nekoliko navrata namjerno izazivale zvonjave mobitela (slika 6).



Slika 6 Posijane sjemenke pšenice – pod utjecajem zračenja mobitela

Praćenje klijanja i rasta pšenice

Nakon nicanja sjemenaka praćene su promjene na klicama pomoću povećala (slika 7). Klicin je korijenak uspoređivan u svim trim skupinama biljaka. Kad su izdanci narasli, praćene su njihove promjene pri rastu. Visina je jednostavno mjerena ravnalom. Svako mjerenje praćeno je isti dan i u isto vrijeme – obično od 12 do 14 sati. Sve promjene su bilježene i praćene tablično i grafički.



Slika 7 Praćenje promjena na proklijalim sjemenkama pšenice

REZULTATI

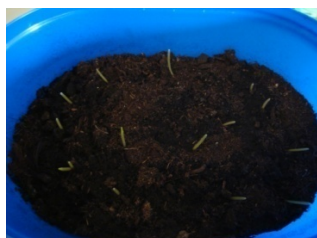
Na temelju rezultata primijećeno je da su sjemenke kontrolne skupine imale najmanji klicin korijenak (prvi red na slici 8), a sjemenke uz računalo najveći (treći red na slici 8). Na proklijalim sjemenkama nisu uočene razlike u građi i obliku sjemenaka. Nije bilo nekih neobičnih izraslina. Sve su klice djelovale zdravo.



Slika 8 Izdvojene i uspoređene proklijale sjemenke 24. prosinca. U prvom redu prikazana je kontrolna skupina sjemenki, u drugom su zraćene sjemenke mobitelima i trećem zraćene računalom

Kod proklijalih sjemenki uz računalo primijećeno je da su klice na opip čvršće i zelenije.

Prosječna visina izdanka u svim posudicama treći dan od sisanja 26.12. bila je 20 mm (slike 9-11).



Slika 9 Izdanci bez zraćenja 26.12



Slika 10 Izdanci zraćeni računalom



Slika 11 Izdanci zraćeni mobitelima

26.12. visina izdanaka pšenice tretiranih zraćenjem računala i mobitela bila je veća od visine pšenice kontrolne skupine. Šesti dan od sisanja, 29.12., najviši su bili izdanci pšenice zraćene računalom, a najmanji oni kontrolne skupine (slike 12-14).



Slika 12 Izdanci bez zračenja 29.12



Slika 13 Izdanci zračeni računalom



Slika 14 Izdanci zračeni mobitelima

Dvadeseti dan promatranja, 12.1., listovi izdanaka su požutjeli i zbog visine su se povijali, osobito oni kontrolne skupine (slike 15-17). Izdanci biljaka izloženi zračenju računala bili su viši, uspravniji, a listovi zeleniji. I biljke izložene mobitelima su bile boljeg izgleda nego kod kontrolne skupine.



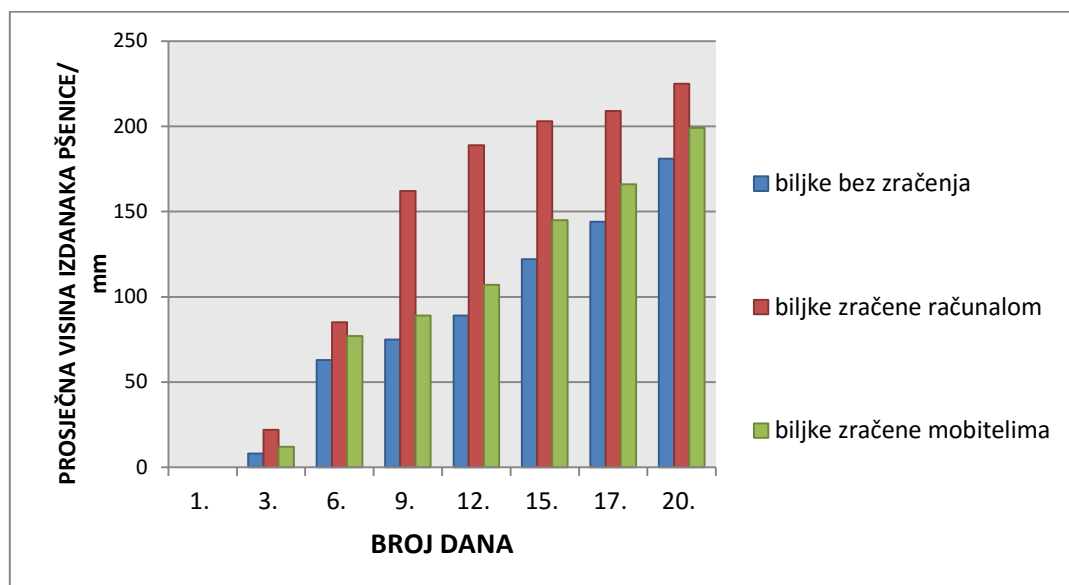
Slika 15 Izdanci bez zračenja 12.1.



Slika 16 Izdanci zračeni računalom



Slika 17 Izdanci zračeni mobitelima



Slika 18 Grafički prikaz izmjerenih visina stabljika pšenice – kontrolne skupine (bez zračenja), skupine zračene računalom i skupine zračene mobitelima u prvom pokusu

Zadnjeg dana mjerenja (20.1.), listovi biljaka kontrolne skupine su bili pomalo suhi, uvenuli i žuti na vrhovima, dok su biljke pod utjecajem zračenja imale zelenije, ljepše i čvršće listove (slika 18).

Peti dan, nakon završetka mjerenja, ozračene biljke i bez daljnjeg zalijevanja su još uvijek bile zelene i većina ih nije povenula. Za razliku od njih, biljke kontrolne skupine su bile omlohavile i listovi su bili još žući (slika 19).



Slika 19 Odražene (zelene) i neodražene (povenute) biljke

Zbog dobivenih rezultata pokus je ponovljen u veljači. 5. veljače posijano je u tri posudice veći broj sjemenaka. Praćenje razvoja biljaka odvijao se kao i prvi put. U svakoj je posudici proklijalo 50-ak sjemenki.

Treći dan klijanja biljke izložene zračenju računala ponovno su bile najviše (slika 23). Zatim slijede biljke koje su bile kraj mobitela, a najlošije su bile biljke izolirane od zračenja. Rast biljaka praćen je do 22. veljače (slike 20-22). Svakim je danom razlika između biljaka bila uočljivija. Rezultati drugog pokusa prikazani su na slici 23.



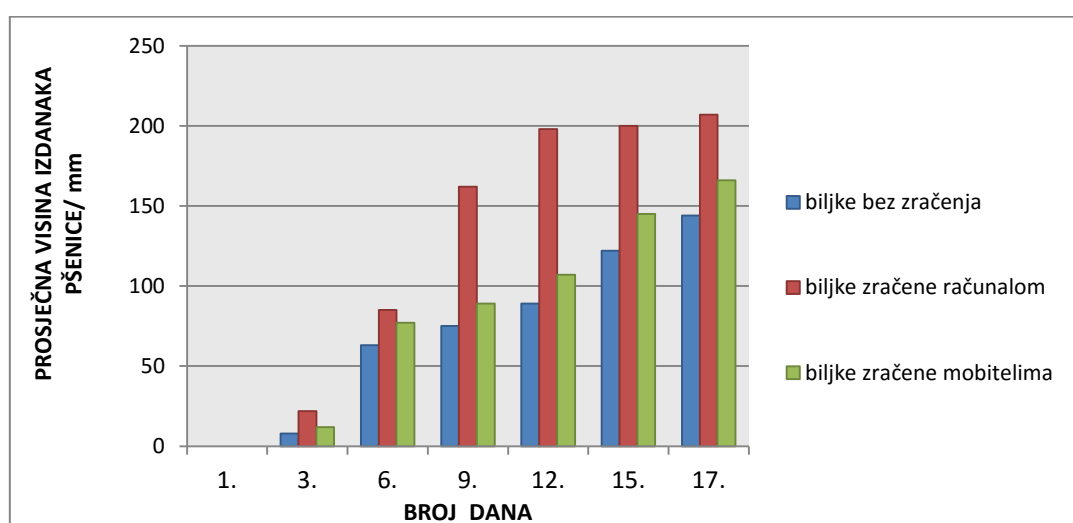
Slika 20 Izdanci bez zračenja 12.1.



Slika 21 Izdanci zračeni računalom



Slika 22 Izdanci zračeni mobitelima



Slika 23 Visine stabljika pšenice – kontrolne skupine (bez zračenja), zračene skupine računalom i zračene skupine mobitelima u drugom pokusu



RASPRAVA

Potvrđena je pretpostavka da će klijavost sjemenaka pšenice s obzirom na vrstu zračenja biti različita. No, biljke izložene zračenju monitora i ostalih dijelova računala i mobitela nisu slabije klijaše, već suprotno od očekivanog. Sjemenke biljaka tretirane zračenjem računala klijaše su brže, malo sporija klijavost je bila kod sjemenaka tretiranih mobitelom, a najsporija kod kontrolne skupine. Zanimljivo je da je utjecaj blizine uređaja pogodio klijanje, što je u suprotnosti istraživanju danskih učenika navedenih u uvodnome dijelu ovoga rada i naših pretpostavki. Za klijavost sjemenki pšenice zračenje nije ograničavajući čimbenik, već suprotno, potiče brže klijanje. Dijelovi klicinih korjenaka su bili zdraviji i čvršći u odnosu na kontrolnu skupinu. Najbolji rast izdanaka je kod biljaka koje su izložene elektromagnetskom zračenju uređaja, osobito dobro kod računala i njegovih dijelova, a najslabije, suprotno postavljenoj hipotezi, kod kontrolne skupine. Na temelju ovakvih rezultata vidi se da zračenje omogućava bolji rast. Listovi zračenih biljaka su zeleniji i stabilnije su čvršće. Ovi rezultati se mogu usporediti s brazilskim znanstvenicima koji su utvrdili da mikrovalna energija pomaže zeleniju boju listova biljke mate (Ceni i sur. 2008) i s podacima sa stranice Vodič za roditelje gdje se navodi kako biljke uspješnije rastu u blizini uređaja koji odašilju elektromagnetsko zračenje (Bošnjak 2014). Pretpostavka da će elektromagnetsko zračenje negativno utjecati na daljnji rast mladih biljaka i da će se na njima moći uočiti različite neuobičajene promjene na listovima, korijenčicima i sl. nije potvrđena. Ovakva vrsta zračenja ovoj vrsti očigledno ne uzrokuje vidljive promjene na listovima i stabljici pšenice. Vjerojatno bi se te promjene mogle uočiti na genetskom materijalu sjemenaka ovih ozračenih biljaka. Zbog svega navedenog, rezultati istraživanja rada nisu potvrdili sve pretpostavke. Pokazuju da, s obzirom na znanstvene dokaze djelovanja zračenja iz uvodnoga dijela rada, pravilo ne vrijedi za promatranu biljku. Pšenica je vjerojatno iskorištavala elektromagnetsko zračenje za svoj rast i razvoj. Stoga se potvrđuju navodi da je neke biljke kao spatifilum, filodendron i fikus dobro postaviti blizu uređaja jer možda mogu apsorbirati zračenje uređaja koje djeluje na naše tijelo. Zabrinjava slučajno pronađena činjenica da su ozračene biljke, koje nisu duže vrijeme zalijevane niti zračene navedenim uređajima, ostale dugo zelene i na prvi pogled zdravog izgleda, za razliku od kontrolne skupine. To samo pokazuje koliko se zračenje dugo akumulira u biljna tkiva, a tako vjerojatno i u čovječja prilikom rada s takvim uređajima. Rezultat se može usporediti s rezultatima Funka i suradnika (2007).

ZAKLJUČCI

Sve promatrane posude sa sjemenkama, a kasnije i izdancima jednako su tretirane što se tiče izvora svjetlosti, vrste tla, količine vlage i topline. Vodio se računa da tijekom najvećeg dijela dana biljke rastu u istim uvjetima kako bi rezultati promatranja bili što točniji. Pokus je ponovljen zbog suprotno dobivenih rezultata od postavljenih pretpostavka.

Na temelju istraživanja zaključeno je da elektromagnetsko zračenje:

1. pozitivno utječe na klijavost i rast sjemenaka i izdanaka pšenice
2. potiče brže klijanje
3. uvjetuje da su dijelovi klicinih korjenaka zdraviji, čvršći u odnosu na kontrolnu skupinu
4. vjerojatno ne uzrokuje promjene na genskom materijalu kod sjemenaka i izdanaka pšenice, jer nismo uočili nikakve neobične izrasline, nepravilnosti u građi listova i stabljika, već naprotiv biljke djeluju zelenije i zdravije.



5. se vjerojatno pohranjuje u organe biljke i djeluje dulje vrijeme i nakon prestanka zračenja, budući da su ozračene biljke i bez zalijevanja dulje ostale zdravijeg izgleda i bile su zelenije, za razliku od neozračenih biljaka.

Rezultati pokazuju da se zračenje iz različitih uređaja vjerojatno pohranjuje i u ljudski organizam. Ne zna se koliko dugo zračenje ostaje u ljudskom organizmu. Upitno je koliko je zdravo nositi mobitele u džepovima hlača. Može li se ikako spriječiti djelovanje najvjerojatnije štetnog zračenja s kojim se svakodnevno susrećemo?

LITERATURA

- Adams M. 2010. Does wi-fi radiation cause tree deformities, or is the fear overblown? Natural News. http://www.naturalnews.com/030494_wi-fi_trees.html#, pristupljeno 16.12.2014.
- Anonymus 2013. Biljke ne rastu u blizini wi fi routera i mobitela. The majka. <https://themajka.com/biljke-ne-rastu-u-blizini-wi-fi-routera-i-mobitela-t1713.html>
- Anonymus 2015. Elektromagnetsko polje. <http://www.huzez.org/>, pristupljeno 20.1.2015.
- Anonymus 2014. Elektromagnetsko zračenje. http://hr.wikipedia.org/wiki/Elektromagnetsko_zra%C4%8Denje, pristupljeno 16.12.2014.
- Anonymus 2014. Elektromagnetsko zračenje, zdravlje i djeca. <http://matrixworldhr.com/2015/02/17/elektromagnetsko-zracenje-zdravlje-i-djeca/>, pristupljeno 16.12.2014.
- Anonymus 2014. Izrazito kancerogeno djelovanje mobitela. <http://www.vecernji.hr/zanimljivosti/za-izrazito-kancerogeno-djelovanje-mobitel-bi-na-ljestvici-1-5-dobio-3-295251>, pristupljeno 16.12.2014.
- Bošnjak N. 2014. Kućne biljke i elektromagnetska zračenja. Vodič za roditelje. <http://www.vodiczaroditelje.com.hr/artikl/obitelji/ekoloski-kutak/kucne-biljke-i-elektromagnetska-zracenja-280.html>, pristupljeno 16.12.2014.
- Ceni G. C. 2008. Influence of Application of Microwave Energy on Quality Parameters of Mate Tea Leaves (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). 1 Institute of Chemistry – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, pristupljeno 12.12.2014.
- Funk R. 2008. Electromagnetic effects – From cell biology to medicine. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19167986>, pristupljeno 12.12.2014.
- Kimmel S. 2007. Electromagnetic Radiation: Influences on Honeybees (*Apis mellifera*). http://www.hese-project.org/hese.../kimmel_iags_2007.pdf, pristupljeno 12.12.2014.
- Klaić M. 2014. Zračenje kod mobilne telefonije. Portal znanstvenih časopisa Republike Hrvatske. http://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=10101, pristupljeno 12.12.2014.
- Zhang X. 2007. Department of Physics, Fourth Military Medical University, Shanxi, China. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17886004>, pristupljeno 12.12.2014.

UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA KONCENTRACIJU UČENIKA

Elizabeta Gegić, 8. razred

Kristina Husinec, 8. razred

Osnovna škola Retkovec, Zagreb

Mentor: Kristina Vujić Teskera

SAŽETAK

Potaknute znatiželjom, afinitetom prema biologiji i brojnim istraživanjima na ovu temu, odlučile smo same istražiti kako eterična ulja utječu na koncentraciju učenika. U prosincu prošle godine provele smo istraživanje nad 72 učenika osmih razreda. Cilj istraživanja bio je utvrditi kako mirisi eteričnih ulja limuna i ružmarina utječu na koncentraciju učenika. Samo se istraživanje sastojalo od tri mjerenja u kojemu su sudjelovale tri homogene grupe, jedna pod utjecajem eteričnog ulja limuna, druga pod utjecajem ulja ružmarina, a treća je skupina bila kontrolna. Mjerenja su se odvijala po principu rješavanja zadataka, koji od učenika osmih razreda zahtijevaju minimalno poznavanje osnovnih računskih radnji, ali i određenu dozu koncentracije. Rezultati su pokazali da je skupina „limun“ bila najuspješnija u rješavanju zadataka, dok je skupina „ružmarin“ postigla najslabije rezultate. Učenici su na miris eteričnog ulja limuna reagirali opušteno i zadovoljno, dok su na miris eteričnog ulja ružmarina reagirali nezadovoljstvom, često ističući da im je miris u prostoriji neugodan i da im smeta. Na temelju dobivenih rezultata istraživanja zaključile smo da na koncentraciju učenika ugodni mirisi utječu pozitivno i stimulirajuće, a da neugodni mirisi mogu stvoriti neke negativne efekte, poput smanjenja koncentracije i lošeg raspoloženja. Navedeni zaključak povezale smo sa znanjem o građi limbičkog sustava koje smo stekle proučavajući literaturu za potrebe istraživanja. Eterično ulje limuna pokazalo se korisnim u situacijama u kojima je potrebna koncentracija i zato ga preporučujemo onima koji miris limuna smatraju ugodnim. Onima koji ne vole miris ružmarina ne preporučujemo njegovo eterično ulje zbog rezultata našeg istraživanja koji ne potvrđuju pozitivan učinak na kognitivne sposobnosti učenika.

Ključne riječi: *osjetilo njuha, miris ulja limuna i ružmarina, amigdala, kognitivne sposobnosti*

UVOD

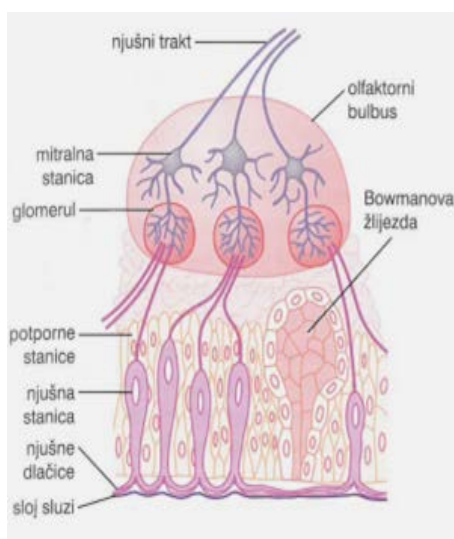
Jeste li se ikada zapitali kako je moguće da ste ponekad u stanju obaviti neki rad brzo i efikasno, a ponekad je za to potrebno više vremena i truda? Čini li vam se ponekad kao da vam nedostaje koncentracije? Jeste li rješenje problema nedostatka koncentracije, koji se javlja kod mnogih ljudi, pokušali pronaći koristeći različite dodatke prehrani ili možda mijenjali okolnosti u kojima radite? Razmišljanje o ovim pitanjima dovelo nas je do traženja nekih zdravijih načina rješavanja ovog problema. Zainteresirao nas je razvoj aromaterapije i njena primjena u liječenju i poboljšanju raspoloženja.

Osjetilo njuha je kroz povijest čovječanstva imalo najvažniju ulogu u preživljavanju. Danas različiti mirisi utječu na naše raspoloženje, pažnju, pamćenje, imunitet, razvijanje refleksa, itd. (Jelaska 2005). Prema definiciji WHO-a (Svjetske zdravstvene organizacije), zdravlje nije samo odsutnost bolesti nego stanje potpuna psihofizičkog i duševnog blagostanja. Iz toga možemo zaključiti da mirisi mogu značajno utjecati na naše zdravlje. Upravo zbog toga, mnoga mjesta za zabavu i okupljanje diljem svijeta s puno pažnje brinu kako svoju uslugu i djelotvornost poboljšati uključivanjem osjeta mirisa, što se najčešće postiže korištenjem eteričnih ulja (Poštić 2014).

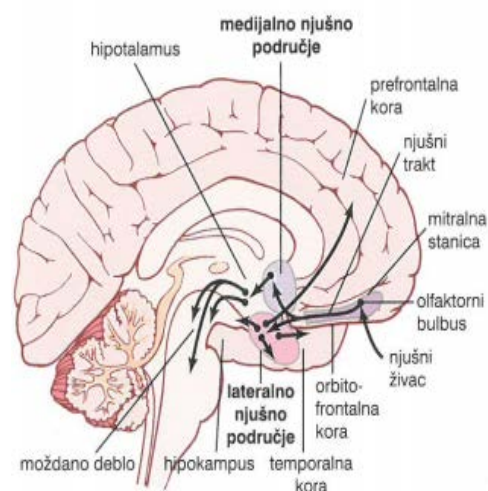
Moderna aromaterapija, korištenje eteričnih ulja u svrhu očuvanja zdravlja i liječenja bolesti, javlja se u prvoj polovici 20. st. kada se počinje ispitivati i proučavati učinak eteričnih ulja na čovjeka. Spomenuta ulja su smjese različitih spojeva karakterističnog mirisa i okusa, a nastaju postupcima izolacije i pročišćavanja iz dijelova velikog broja biljaka (Papić 2010).

Osim za očuvanje zdravlja i dobro raspoloženje, poznat je, i u zadnje vrijeme široko rasprostranjen, način poboljšanja koncentracije pod utjecajem eteričnih ulja. Koncentracija je, dakako, iznimno važna, posebice za nas učenike – naša kontinuiranost u radu, efikasnost i učinkovitost te, naravno, postizanje mjerodavnih rezultata na kontrolnim zadaćama izravno su povezani s našom koncentracijom. Zbog mnogih faktora gotovo je nemoguće točno odrediti zašto nam je ponekad teže usredotočiti se na rad, no nedvojbeno je da takve situacije mogu negativno utjecati na učenika. Kako bi se to izbjeglo, godinama se pronalaze različiti načini poboljšanja koncentracije učenika, a jedno od njih je i aromaterapija.

Na samom početku, kako bismo uopće mogle započeti istraživački rad, morale smo se zapitati postoji li ikakva stvarna veza između mirisa i kognitivnih sposobnosti te uz pomoć literature pronaći odgovor. Naime, kemijskim podražajem njušnih stanica, u ovom slučaju česticama eteričnog ulja, nastali živčani impulsi mitralnim stanicama i zatim njušnim živcem dolaze u dva područja moždanog centra za njuh: medijalnog i lateralnog njušnog područja. Medijalno područje je smješteno iznad i ispred hipotalamusa, a lateralno područje obuhvaća dio amigdale (centar za emocije). Iz tih se područja aksoni šire prema drugim područjima mozga pa tako iz lateralnog područja informacije dolaze i u prefrontalni dio velikog mozga. Prefrontalno područje mozga je važno za održavanje usmjerenosti pažnje (Guyton 2012). Na slikama 1 i 2 prikazani su dijelovi živčanog sustava koji su povezani s našom temom.



Slika 1 Njušna membrana (izvor: Guyton, 2012.)



Slika 2 Živčane veze njušnog sustava (izvor: Guyton, 2012.)

Dakle, problem koji nas je potaknuo na istraživanje je nedostatak koncentracije, a predmet istraživanja je utjecaj eteričnih ulja na koncentraciju učenika.

Obrazloženje teme

Vrijeme koje mi učenici provodimo na nastavi ispunjeno je različitim zadacima koji od nas iziskuju predanost, koncentraciju i efikasnost. Kako mediji često govore o različitim proizvodima preporučenim mladim osobama koji pospješuju rad na nastavi, nameće se pitanje kako ti proizvodi zapravo utječu na nas. Eterična su ulja jedna od mnogih prirodnih proizvoda koji su u zadnje vrijeme na našim prostorima stekli veliku popularnost.



Kako dosad nismo bile upoznate s utjecajem eteričnih ulja na organizam, njihova trenutačna aktualnost te znatiželja i afinitet prema biologiji, potaknuli su nas da same pokušamo otkriti o čemu je zapravo riječ i može li naša koncentracija bitno varirati u različitim okolnostima.

Razvojem moderne aromaterapije početkom prošlog stoljeća, znanstvenici diljem svijeta su različitim istraživanjima potvrđivali ili opovrgavali svoje pretpostavke o učincima eteričnih ulja. Od novijih studija za primjer možemo uzeti onu u kojoj je Američko mikrobiološko društvo (Carson i sur. 2006) potvrdilo antimikrobno djelovanje eteričnog ulja drva čaja, a nekoliko godina kasnije potvrđeno je umirujuće djelovanje eteričnog ulja naranče na ljude (Goes i sur. 2012). Člankom na internetskoj stranici Sveučilišta u Minnesoti, Halcon i Maher (2013) zaključuju da: „Istraživanja o eteričnim uljima pokazuju pozitivne učinke za razne zdravstvene probleme, uključujući infekcije, bol, tjeskobu, depresiju, razvoj karcinoma, predmenstrualni sindrom, mučninu i dr.“

Poštić (2011), autorica prve knjige o aromaterapiji na hrvatskom jeziku, na internetskoj stranici „Naturala.hr“ navodi da mješavine ulja ružmarina i limuna poboljšavaju koncentraciju.

Navedeni primjeri govore o općenitoj dobrobiti eteričnih ulja, ali i dokazuju da ista imaju konkretan utjecaj na čovjeka. Takvi su nas podatci ohrabрили u našem istraživanju te nas usmjerili u odabiru predmeta istraživanja.

Samo istraživanje provodilo se u tri homogene skupine učenika tijekom prosinca 2014. godine u trajanju od 3 dana. Uz jednu kontrolnu skupinu, koja nije bila pod utjecajem eteričnih ulja, postojale su još dvije skupine, jedna pod utjecajem eteričnog ulja limuna, a druga ulja ružmarina koje su paralelno s kontrolnom, ali svaka u različitim prostorijama, rješavale zadatke koji nisu zahtijevali znanje, već koncentraciju učenika. Krajnji cilj ovog istraživanja je utvrditi na temelju dobivenih rezultata kako eterična ulja djeluju na nas s gledišta koncentracije i efikasnosti pri radu.

Hipoteza koju smo postavili je da eterična ulja pozitivno djeluju na koncentraciju te da će učenici koji su pod utjecajem istih postići bolje rezultate u rješavanju zadataka koji zahtijevaju pozornost.

Smatramo da rezultati istraživanja za nas imaju izrazito velik značaj jer ako se potvrdi pozitivan utjecaj eteričnih ulja na koncentraciju, uz njihovu praktičnost, ekonomičnost i laku dostupnost, ista bi mogla dobiti široku primjenu kod učenika, profesora i svih onih čiji rad zahtijeva pozornost i mentalnu izdržljivost. Problem koncentracije koji često brine učenike, čini ih nesigurnima za vrijeme usmenih odgovaranja i pisanja kontrolnih zadataka te ponekad izaziva nesuglasice s učiteljima, bio bi djelomično riješen jer bi učenici imali priliku postići rezultate primjerenije svojim stvarnim sposobnostima. Također, samo učenje i obavljanje školskih obaveza postalo bi jednostavnije. Čak i u slučaju da dobiveni rezultati ne odgovaraju našoj hipotezi, još uvijek bi bili javno izneseni i na taj bi način doprinijeli sveukupnom istraživanju o primjeni aromaterapije.

MATERIJAL I METODE RADA

Uzorak

Ukupno su u istraživanje uključena 72 učenika osmih razreda naše škole, koji su bili podijeljeni u tri skupine. Svaka je skupina podijeljena na jednak broj dječaka i djevojčica te na jednak broj učenika s



odličnim, dobrim, vrlo dobrim i dovoljnim uspjehom. Također, svi su učenici poučavani od istog profesora matematike. Prije provođenja samog istraživanja potpisane su suglasnosti roditelja djece koja su bila ispitivana u istraživanju kojima oni pristaju na sudjelovanje svoje djece u istraživanju te na korištenje njihovih rezultata za potrebe istraživačkog rada. U suglasnostima je navedeno da odabrani učenici nemaju alergijske reakcije niti poteškoće s disanjem.

Učenici su upućeni u način rada kako bi uvjeti u svim grupama bili ujednačeniji, a time bi i sami rezultati istraživanja postali vjerodostojnijima. U uputama je, između ostalog, bilo navedeno da u tjednu u kojemu se mjerenje provodi, učenici trebaju spavati najmanje 7,5 sati dnevno i ujutro doručkovati.

Istraživanje je provedeno u tri mjerenja (srijeda, četvrtak i petak) prije redovne nastave u tjednu kada su učenici osmih razreda bili u jutarnjoj smjeni. Prije samog početka rješavanja jednostavnih matematičkih zadataka, svaka bi skupina bila zadržana 30 minuta u svojim učionicama u kojima je, osim kod kontrolne skupine, već bio prisutan miris eteričnog ulja limuna ili ružmarina. Kod narednih bi mjerenja skupine bile podvrgnute istim uvjetima kao i dan prije. Zadatci bi u svakoj učionici bili rješavani u tišini, samostalno, istovremeno u svim trima skupinama, uz naš nadzor i pratnju još jednog profesora. Kada bi zadatci bili riješeni, učenici bi bili zadržani na mjestu sve do završetka mjerenja kada bi bili upućeni na zajednički izlazak iz učionice. Učenici za vrijeme mjerenja nisu bili upoznati sa tematikom i ciljem istraživanja.

Metode rada

Istraživanje je podijeljeno u četiri ciklusa:

1. sastavljanje testova
2. provođenje mjerenja
3. provođenje ankete među sudionicima istraživanja
4. ispravljanje riješenih zadataka i uspoređivanje rezultata.

Testovi bi bili promijenjeni svakog dana, no princip mjerenja i zadataka bi ostao isti. U test je umetnuto više jednostavnih zadataka u kojima se ne zahtijeva posebno znanje ili se pak zahtijeva poznavanje osnovnih matematičkih radnji (zbrajanje i oduzimanje). Prvi zadatak bio je rješavan uz pomoć znakova koji su projektorom bili projicirani na školsku ploču. Primjerci testova nalaze se na kraju ovoga rada (prilog 1). Svi su učenici bili sposobni riješiti cijeli test u roku od 15 minuta koliko je trajalo mjerenje.

Prije svakog mjerenja, učionice (površine 58 m²) bi bile prozračene kako bi bilo dovoljno zraka te su u dvije učionice 45 minuta prije početka eksperimenta zapaljene po četiri mirisne lampe s po 2 kapi eteričnog ulja (proizvođač: PTO Ćurin, Gdinj, Hvar) u 20 ml vode. Kao što je već navedeno, učenici su bili izloženi mirisima ulja u učionici 30 minuta prije nego je ispitivanje započeto. Jedna je skupina bila podvrgnuta utjecaju eteričnog ulja limuna, druga eteričnog ulja ružmarina, a treća je bila kontrolna skupina u kojoj su bile lampice s čistom vodom bez eteričnog ulja. Vrata učionica bila su zatvorena i nakon što su sve skupine uvedene u učionice, nije bio dopušten ni izlazak ni ulazak.

Prije trećeg mjerenja provedena je anketa (prilog 2) među ispitanicima, kako bi se što bolje razumjeli rezultati i zaključci dobivenih u ovom istraživanju, ali i zbog mogućnosti prikupljanja što većeg broja podataka kako bi istraživanje bilo što vjerodostojnije. Pitanja u anketi su se odnosila na razumijevanje zadataka, na učenikov osjet ugođaja i njihovo zadovoljstvo radom.



Testovi su bili ispravljani bez znanja čiji su i iz kojih grupa dolaze kako bi se postigla maksimalna razina objektivnosti.

Rezultati istraživanja izraženi su u broju točno riješenih zadataka, u postotcima i grafičkim prikazima.

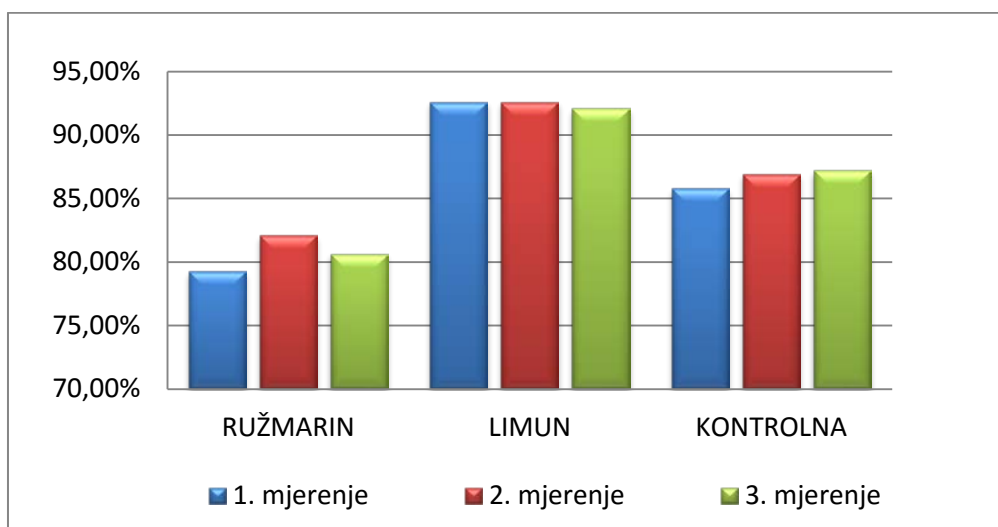
REZULTATI

Tijekom istraživanja ispitana su 72 učenika. Velika se važnost pridavala tome da grupe budu ujednačene uzevši u obzir više različitih parametara (spol, dob i uspjeh iz matematike na kraju prošle školske godine). Nakon mjerenja uslijedilo je ispravljanje testova. S obzirom da su učenici u zadanom vremenu uspjeli riješiti sve zadatke, u daljnjim će tablicama i grafikonima biti prikazana isključivo riješenost točno riješenih zadataka.

U priloženoj tablici 1 i na slici 1 jasno je vidljivo da je skupina pod utjecajem ulja limuna testove riješila najuspješnije, dok je skupina pod utjecajem ulja ružmarina u svim mjerenjima postigla najslabije rezultate. Rezultati svih skupina se kroz mjerenja nisu bitno mijenjali.

Tablica 1 Riješenost zadaka

skupina	mjerenje	broj točno riješenih zadataka	postotni udio
RUŽMARIN	1. mjerenje	894/1128	79,26%
	2. mjerenje	926/1128	82,11%
	3. mjerenje	910/1128	80,64%
LIMUN	1. mjerenje	1045/1128	92,60%
	2. mjerenje	1045/1128	92,60%
	3. mjerenje	1039/1128	92,10%
KONTROLA	1. mjerenje	968/1128	85,82%
	2. mjerenje	991/1128	86,94%
	3. mjerenje	987/1128	87,23%



Slika 1 Rezultati riješenosti testova svih skupina



Rezultati ankete prikazani su u tablici 2. Odgovori su uglavnom bili ujednačeni i vrlo slični unutar skupina. Učenici pod utjecajem eteričnog ulja limuna su općenito bili zadovoljniji ugođajem i rješavanjem zadataka te boljeg raspoloženja od učenika pod utjecajem eteričnog ulja ružmarina. Obje su se skupine složile da su razumjele zadatke.

Tablica 2 Rezultati ankete

skupina	ZADOVOLJNI UGOĐAJEM	RAZUMJELI ZADATAK	ZADOVOLJNI RJEŠAVANJEM TESTA
LIMUN	22 od 24 učenika	24 od 24 učenika	20 od 24 učenika
RUŽMARIN	1 od 24 učenika	24 od 24 učenika	3 od 24 učenika

RASPRAVA

U prosincu 2014. godine započele smo istraživanje o utjecaju eteričnih ulja na koncentraciju učenika postavivši hipotezu da će učenici postići bolje rezultate pri rješavanju testova kada su pod utjecajem eteričnih ulja limuna, odnosno ružmarina. Osim što je eterično ulje limuna jedno od najpopularnijih, a ružmarin karakterističan za hrvatsko primorje, razlog odabira upravo tih eteričnih ulja za naše istraživanje pronašle smo na različitim portalima, specijaliziranim za aromaterapiju, gdje su navedena brojna istraživanja na temu eteričnih ulja, posebice limuna i ružmarina.

U aromaterapijskoj se literaturi vrlo često citiraju rezultati istraživanja japanskih znanstvenika sa sveučilišta Toho obavljenog još 1980.-ih godina, koji su pokazali da eterična ulja limuna i paprene metvice djeluju stimulirajuće, a ulja lavande i muškarnog oraščića djeluju opuštajuće i reduciraju stres, dok će mješavina ulja ružmarina i limuna poboljšati koncentraciju, a mješavina ulja lavande i kamilice potaknuti relaksaciju (Poštić 2014).

U tradicionalnoj, ali i danas u modernoj aromaterapiji jedno od najpoznatijih eteričnih ulja je ulje limuna. Od davnina je bila općeprihvaćena činjenica da limun jača koncentraciju, poboljšava raspoloženje i smanjuje stres (Podnar 2014). Nedavno je istraživanje dokazalo da eterično ulje limuna pospješuje efikasnost osoba koje rade za tipkovnicama tako što smanjuje količinu tipfelera za 54% (Poštić 2014). Dokumentirani rezultati našeg istraživanja upućuju na to da su učenici, koji su rješavali testove pod utjecajem eteričnog ulja limuna, bili u prosjeku 5,77% uspješniji u rješavanju zadataka u kojima se iziskuje pažnja u odnosu na rezultate učenika u kontrolnoj skupini. Također, zabilježeno je i da se gotovo svim učenicima u toj skupini miris eteričnog ulja limuna dopao. Takav je rezultat očekivan i u skladu s našom hipotezom o pozitivnom utjecaju eteričnog ulja na koncentraciju učenika i rezultatima navedenih istraživanja.

Istraživanja američkih znanstvenika pokazala su da eterično ulje ružmarina pozitivno utječe na pamćenje i koncentraciju (Moss i sur. 2003). No, u našem istraživanju, rezultati grupe "ružmarin" bili su u prosjeku 6,03% slabiji od rezultata kontrolne grupe. Valja istaknuti da je većina učenika specifični miris ružmarina smatrala neugodnim, premda istraživanja potvrđuju da ružmarin djeluje opuštajuće na organizam (Galamaga i sur. 1998).

Dakle, učenici koji su nakon udisanja mirisa eteričnog ulja ružmarina rješavali jednostavne zadatke koji zahtijevaju pozornost, ostvarili su lošije rezultate od učenika koji nisu bili pod utjecajem eteričnog ulja tijekom istraživanja, odnosno, eterično ulje ružmarina nije pozitivno utjecalo na koncentraciju učenika.



Uzrok odstupanja od očekivanih rezultata mogao bi se pronaći u određenim metodološkim nedostacima našeg istraživanja. Mjerenja su bila provedena na manjem broju učenika zbog čega se vjerojatnost neujednačenih skupina u smislu mentalnih sposobnosti povećava. Negativne reakcije na miris ružmarina mogu biti posljedica pogrešnog doziranja eteričnog ulja za veličinu prostorije u kojoj su se učenici nalazili.

U jednom se istraživanju na temu veza mirisa i procesa učenja iznosi zaključak u kojem se smatra da mirisi zapravo smanjuju nervozu i potiču pozitivno raspoloženje, što unapređuje mentalne sposobnosti pojedinca (Hirsch i sur. 2005). Činjenica je da impulsi iz njušnih stanica, kao što smo naveli u uvodu, dolaze najprije do amigdale, a tek onda u misaoni dio mozga. Amigdala određuje imaju li informacije emotivnu vrijednost te reagira prije nego neokorteks (važan i za koncentraciju tijekom rada) uspije filtrirati informaciju.

Među osjećajima koji putuju izravno kroz amigdalnu su i naši najprimitivniji i najsnažniji osjećaji. Hipokampus, do kojeg također stižu impulsi iz primarnih njušnih područja, čuva informacije (Jelaska 2005). Ako uzmemo u obzir zaključak navedenog istraživanja i vezu između emocija, kognitivne sposobnosti s osjetilom njuha koja je objašnjena u uvodu, lako možemo uvidjeti uzročno-posljedične veze reakcija učenika na različite mirise i različite rezultate dobivene na kraju istraživanja. Važno je napomenuti da amigdala također pokreće emocionalne signale u mozgu i tako utječe na promjene raspoloženja. Ako nam se miris sviđa, to će se odraziti na naše kognitivne sposobnosti na način kojeg smo uočili kod učenika pod utjecajem eteričnog ulja limuna. Jednako tako uočavamo negativnu reakciju na miris eteričnog ulja u grupi "ružmarin" što se odrazilo i na njihov, u odnosu na kontrolnu grupu, ispodprosječan rezultat.

ZAKLJUČCI

S obzirom na rezultate našeg istraživačkog rada i slična istraživanja, možemo zaključiti da je cilj istraživanja ispunjen, odnosno saznali smo kako eterična ulja utječu na koncentraciju učenika. Potvrdili smo povezanost osjetila njuha i dijela živčanog sustava važnog za usmjerenost pažnje tijekom rješavanja zadataka.

Na temelju okolnosti u kojima su mjerenja provedena i krajnjih rezultata, izvele smo sljedeće zaključke:

1. Skupina „limun“ je pri rješavanju testova postigla bolje rezultate, jer su učenici miris eteričnog ulja limuna doživjeli ugodnim i opuštajućim, a to je stimulirajuće djelovalo na njihovu koncentraciju.
2. Skupina „ružmarin“ je pri rješavanju testova postigla ispodprosječne rezultate zbog mirisa eteričnog ulja ružmarina, koji je negativno utjecao na njihovu koncentraciju i ometao ih u radu.
3. Preporučujemo korištenje eteričnog ulja limuna u trenucima kada je važna koncentracija.

LITERATURA

- Carson C. F., Hammer K. A., Riley T. V. 2006. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and other medical Properties. PubMed, American Society for Microbiology <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1360273/>, pristupljeno 07.12.2014.
- Galamaga R., Galamaga M., Hernandez-Reif M., Schanberg S., Kuhn C., McAdam V. 1998. Aromatherapy positively effects mood. EEG patterns of alertness and math computations, University of Miami School of Medicine. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10069621#>, pristupljeno 09.12.2014.
- Goes T. C., Antunes F. D., Alves P. B., Teixeira-Silva F. 2012. Effect of sweet orange aroma on experimental anxiety in humans. PubMed. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22849536#>, pristupljeno 09.12.2014.



Guyton A. C., Hall J. E. 2012. Medicinska fiziologija, 12. izdanje. Medicinska naklada, Zagreb, str. 648-652.

Halcon L., Maher K. 2013. What Does the Research Say About Essential Oils? University of Minnesota.

<http://www.takingcharge.csh.umn.edu/explore-healing-practices/aromatherapy/what-does-research-say-about-essential-oils>, pristupljeno 10.12.2014.

Hirsch A. 2009. Miris kao faktor uspješnosti učenja. Vanja Malidzan's blog. <http://vanjamalidzan.blogspot.com/2009/02/miris-kao-faktor-uspjesnosti-ucenja.html>, pristupljeno 16.11.2014.

Jelaska A. 2004. Duševni plodovi mirisa. Vaše zdravlje. <http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/532/0/>, pristupljeno 08.12.2014.

Moss M. 2003. Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. PubMed. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12690999>, pristupljeno 13.12.2014.

Papić J. 2010. Uspješnost primjene eteričnih ulja u aromaterapiji proporcijalna je njihovoj kakvoći. Aromaterapija.info. <http://aromaterapija.info/aromaterapija/uspjesnost-primjene-etericnih-ulja-u-aromaterapiji-proporcionalna-je-njihovoj-kakvoci/>, pristupljeno 10.12.2014.

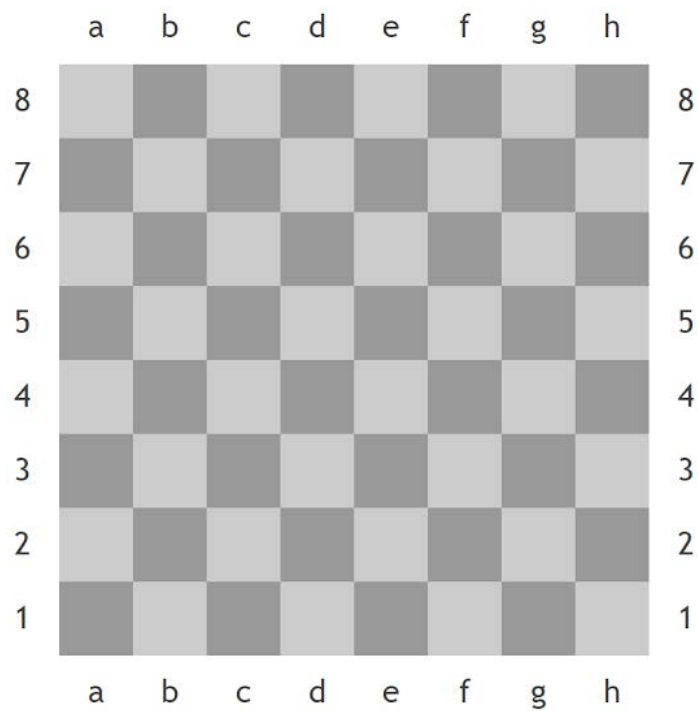
Podnar O. 2014. Ulje limuna. Alternativa za Vas. <http://alternativa-zavas.com/index.php/clanak/article/ulje-limuna>, pristupljeno 14.12.2014.

Poštić S. 2011. Eterična ulja na poslu pojačavaju koncentraciju i kreativnost. Naturala.hr.

<http://www.naturala.hr/mobile.naturala.hr/index.php?article=3074>, pristupljeno 03.12.2014.

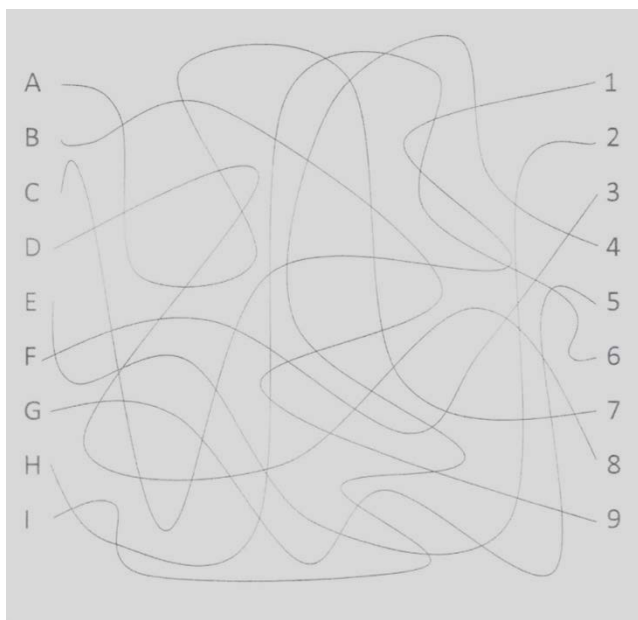
**PRILOZI****Prilog 1 Testovi**

1. KRIŽIČEM OZNAČI POLJA PRIKAZANA NA EKRANU:



2. U TABLICU PORED ZADANIH SLOVA NAPIŠI BROJ KOJI MU PRIPADA:

B	
G	
I	



3. NAPIŠI KOLIKO KRUŽICA VIDIŠ:

b) oooooooooooooooooooooooooooooo=

a) oooooooooooooooooooooooooooooo=

c) oooooooooooooooooooooooooooooooooo=



4. RIJEŠI ZADATKE:
- | | | |
|---------------|---------------|----------------|
| a) $123+87=$ | g) $356+484=$ | n) $572+37=$ |
| b) $462-93=$ | h) $521+125=$ | o) $393-165=$ |
| c) $443-378=$ | i) $322+318=$ | p) $1105-596=$ |
| d) $27+251=$ | j) $64-17=$ | q) $317+91=$ |
| e) $111+325=$ | k) $73-38=$ | r) $85+347=$ |
| f) $99+89=$ | l) $190-47=$ | s) $563-74=$ |
| | m) $87+65=$ | t) $671+221=$ |

Prilog 2 Anketni listić

Od ponuđenih zaokruži jedan odgovor.

1. Kakav ti je bio ugođaj u učionici?

UGODAN NEUGODAN

2. Jesi li razumio/la sve postavljene zadatke?

DA NE

3. Jesi li zadovoljan/na s rješavanjem testa?

DA NE

Ukoliko želiš, napiši svoj komentar.

UTJECAJ MIKROVALOVA NA RAST I RAZVOJ BILJAKA

Mihaela Mandić, 8. razred

Žana Franjević, 8. razred

OŠ „Stjepan Radić“, Božjakovina

Mentor: Ivana Skočić

SAŽETAK

Cilj ovog rada bilo je potvrditi ima li voda prokuhana u mikrovalnoj pećnici štetan utjecaj na klijanje, rast i razvoj biljke. Provedeno je ispitivanje na sjemenkama graha kao i na mladim biljkama. U prvom dijelu istraživanja sjemenke su podijeljene u tri skupine. Prva skupina sjemenki zalijevana je vodom prokuhanom u mikrovalnoj pećnici, druga skupina vodom prokuhanom na plinskom štednjaku, a treća skupina neprokuhanom vodom. U drugom dijelu istraživanja mlade biljke koje su formirale biljne organe podijelili smo u dvije skupine. Prvu skupinu nastavili smo zalijevati vodom prokuhanom u mikrovalnoj pećnici, a drugu vodom prokuhanom na plinskom štednjaku. Rezultati našeg istraživanja pokazali su kako voda prokuhana u mikrovalnoj pećnici usporava i smanjuje klijavost sjemenki graha. U slučaju sjemenki zalijevanim vodom prokuhanom na plinskom štednjaku i neprokuhanom vodom nema razlike u klijavosti. Također, voda prokuhana u mikrovalnoj pećnici negativno utječe na daljnji rast i razvoj biljke graha.

Ključne riječi: *mikrovalno zračenje, mikrovalne pećnice, sjemenke, klijanje*

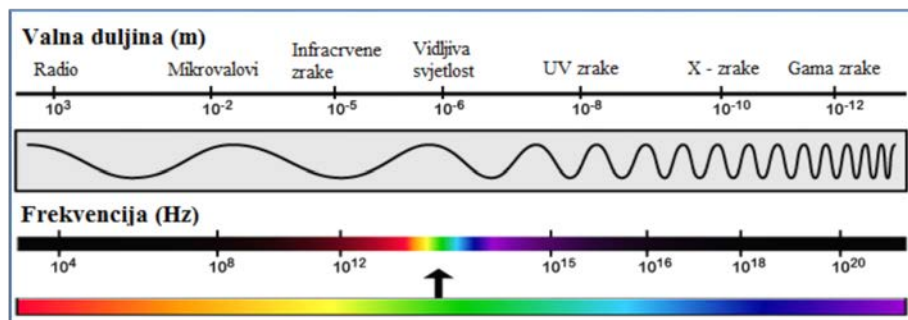
UVOD

MIKROVALNE PEĆNICE I MIKROVALOVI

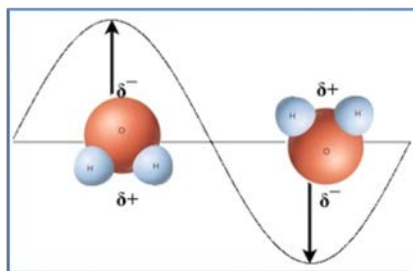
Otkako su ljudski preci naučili koristiti vatru toplina se koristi za pripremu hrane. U štednjacima toplinu proizvode plinski plamenici ili električni grijači. U oba slučaja toplina se prenosi na hranu vođenjem. S obzirom na to da se kod takvih štednjaka više od polovice energije gubi u okolinu, razvijene su pećnice koje iskorištavaju više energije za termičku obradu hrane. Među tim novim aparatima za termičku obradu hrane je mikrovalna pećnica koja koristi napravu zvanu magnetron za stvaranje vrste elektromagnetskog zračenja, odnosno mikrovalova.

Osnovni preduvjeti za pojavu mikrovalnih pećnica stvoreni su u vojnim laboratorijima početkom Drugog svjetskog rata za upotrebu u radarskim sustavima. No, ubrzo je uočeno da mikrovalovi prodiranjem kroz hranu potiču molekule vode na vrlo brzu vrtnju pa dolazi do trenja. Unutarnja energija – toplina prelazi na hranu. Prva mikrovalna pećnica patentirana je 1953. godine, ali bila je nezgrapna za korištenje u kućanstvima zbog visine od gotovo 2 metra i mase 400 kilograma. Imala je vodeno hlađenje pa je, osim na struju, bila priključena i na vodovod. Manje i učinkovitije mikrovalne pećnice razvijene su tek sedamdesetih godina i od tog vremena ulaze u veću upotrebu u kućanstvima i prehrambenoj industriji.

Mikrovalne pećnice rade na principu mikrovalova - elektromagnetskog zračenja koje nastaje prilikom gibanja naboja koji generira elektromagnetsko polje. Mikrovalovi su valovi valnih duljina od 0,3 m do 1 mm. Primjenjuju se u radarskoj tehnici i komunikacijskim sustavima. Raspon frekvencija tih valova je od 1 GHz do 300 GHz (Sl. 1.).

Slika 1. Elektromagnetski spektar (izvor: <http://planck.caltech.edu>)

Kod mikrovalne pećnice magnetron oslobađa elektrone koji svojim gibanjem stvaraju elektromagnetsko zračenje valnih duljina mikrovalova. Kada su vrata pećnice zatvorena, strujni je krug zatvoren i pećnica radi. Elektromagnetni su valovi preko vodiča usmjereni na dio pećnice gdje se postavlja hrana. Mikrovalovi koji prolaze hranom, električnog su polja koje oscilira 2,45 milijardi puta u sekundi. Budući da molekule vode imaju različit električni naboj na svakom kraju, okreću se istom brzinom kojom se mijenja polaritet (smjer) električnog polja (Sl. 2.). Trenje između molekula u okretanju proizvodi toplinu koja se vođenjem prenosi na hranu te ju tako zagrijava, dok se istovremeno zrak oko tih namirnica ne zagrijava.

Slika 2. Rotacija molekule vode pod utjecajem elektromagnetskih valova (izvor: <http://tobyzerner.com>)

MIKROVALNE PEĆNICE I ZDRAVLJE

Mikrovalne pećnice pogodne su za brzo pripremanje hrane i energetski su učinkovitije od konvencionalnih štednjaka te su zbog toga u velikom broju prisutne u kućanstvima. No, i dalje se postavlja pitanje jesu li štetne po zdravlje ljudi.

Provedena su mnoga istraživanja čiji su rezultati ukazali na štetnost hrane pripravljene u mikrovalnoj pećnici. Ubrzo nakon što je mikrovalna pećnica izumljena, ruski znanstvenici proveli su temeljito istraživanje o biološkim efektima korištenja mikrovalnih pećnica i pronašli velike količine kancerogenih tvari u hrani pripremanoj u mikrovalnoj pećnici. Zabrinuti dobivenim rezultatima 1976. godine zabranili su uporabu mikrovalnih pećnica u zemljama bivšeg SSSR-a. Zabrana je ukinuta početkom 90-tih godina.

U studenom 2003. godine objavljeno je istraživanje o tome kako pojedini načini pripremanja brokule uništavaju njene nutritivne vrijednosti. Brokula kuhana na pari izgubila je 11% svojih antioksidansa, a ona kuhana u malo vode u mikrovalnoj pećnici izgubila je gotovo 97% antioksidansa. Također, u brokoli kuhanoj u mikrovalnoj pećnici smanjene su razine fenola i glukozinolata (Vallejo i sur., 2003).

Dr. Hans Hertel na Švicarskom institutu za tehnologiju i Institutu za biokemiju istraživao je utjecaj koji hrana pripremana u mikrovalnoj pećnici ima na krv i fiziologiju ljudi. Dokazao je da mikrovalna zračenja u potpunosti uništavaju hranjive tvari u hrani i mogu izazvati vrlo loše posljedice na ljudsko tijelo. Zaključci njegovog istraživanja bili su sljedeći: povećana razina kolesterola u krvi, smanjen broj limfocita, smanjen broj crvenih krvnih stanica, smanjena razina hemoglobina, povećan broj leukocita te proizvodnja radiolitičkih spojeva.

Neka druga istraživanja pokazala su kako majčino mlijeko podgrijano u mikrovalnoj pećnici gubi svoju lizosomnu aktivnost, uništena su antitijela te je pogodno za razvoj patogenih bakterija (Quan i sur., 1992), mlijeko kuhano 6 minuta u mikrovalnoj pećnici izgubi 30-40% vitamina B12, odnosno pretvoren je u inaktivan oblik (Watanabe i sur., 1998), izlaganje češnjaka mikrovalnom zračenju na 60 sekundi dovoljno je za inaktivaciju enzima alinaze, osnovnog sastojka iz češnjaka koji ima antikancerogeno djelovanje (Song i Milner, 2001).

UVJETI KLIJANJA SJEMENKI

Biljke sjemenjače imaju sjemeni zametak iz kojeg se razvija sjemenka koja se sastoji od sjemene lupine, klice i supki. U povoljnim uvjetima sjemenke prokliju. Klijanje je proces kojim se iz klice razvija nova biljka (Sl. 3). Sjemenici za klijanje trebaju zrak, toplina i voda; sjemenka mora biti zrela, zdrava i ne prestara. U početku se sjemenka hrani heterotrofno, koristeći hranjive tvari pohranjene u supkama. Nakon što se rezervne tvari potroše i listovi se formiraju mlada biljka se počinje hraniti autotrofno. Za klijanje sjemena kod različitih biljnih vrsta potreban je dulji, odnosno kraći vremenski period.



Slika 1. Klijanje graha (izvor: <http://wonderopolis.org>)

MORFOLOŠKE I ANATOMSKE KARAKTERISTIKE GRAHA

Grah je jednogodišnja biljka iz skupine mahunarki vrlo kratke vegetacije. Od sjetve do berbe prođe svega 50 do 60 dana. Klijanje traje od 8 do 10 dana. Grah ima velike zahtjeve za toplinom koja je neophodna za normalan rast i razvoj. Optimalna temperatura u fazi sjetve iznosi 20-23 °C dok bi tijekom vegetacije temperatura trebala iznositi 18-25 °C. Korijenov sustav uglavnom se nalazi u površinskom sloju tla te su stoga potrebe za vodom manje u odnosu na druge povrtno kulture. Zahvaljujući simbiozi s bakterijskim kvržicama, grah koristi atmosferski dušik i obogaćuje tlo dušikom („zelena gnojdba”). Cvijet je bijeli, ljubičasti ili neke druge boje (Sl. 4.). Plod je mahuna, a njezin oblik, boja, veličina ovisi o sorti (Sl. 5.).



Slika 4. Biljka graha



Slika 5. Mahuna graha i sjemenke

OBRAZLOŽENJE TEME

Mikrovalovi predstavljaju elektromagnetsko zračenje kao i svjetlosni i radio valovi, a zauzimaju dio elektromagnetskog spektra. To su vrlo kratki valovi elektromagnetskog zračenja koji putuju brzinom svjetlosti. Sveprisutni su u današnjim komunikacijskim sustavima (navigacijski sustavi u zračnim lukama, uređaji za radarsko mjerenje brzine, satelitski komunikacijski sustavi, bežične računalne mreže i dr.).

Mnoga kućanstva opremljena su mikrovalnim pećnicama za pripremu hrane koje, kao što im ime kaže, rade na principu mikrovalova. Mikrovalovi prolaze kroz plastiku i staklo, a apsorbiraju ih svi objekti koji sadrže vodu. Voda je prisutna u velikim količinama u svim oblicima života ovog planeta. Molekula vode građena je tako da jedan kraj ima pozitivan, a drugi kraj negativan naboj. Kada se podvrgnu mikrovalnom zračenju, molekule vode zbog rotacije izmjenjuju polarnost. U mikrovalnim pećnicama promjene polariteta događaju se nekoliko milijardi puta u svakoj sekundi. Premještanje molekula je toliko da zbog njihovog kretanja i sudaranja dolazi do trenja pa se pri tome oslobađa dio unutarnje energije – topline koja kuha ili peče hranu, a molekule vode strukturno se deformiraju.

Razlog velikoj prisutnosti mikrovalnih pećnica u domaćinstvima je u tome što su one pogodne za brzo pripremanje hrane i energetski su učinkovitije u usporedbi s konvencionalnim štednjacima. No, unatoč tako širokoj primjeni mikrovalnih pećnica i dalje se postavlja pitanje jesu li štetne po zdravlje.

O ovome problemu postoje mnoga znanstvena istraživanja. I dok jedan dio znanstvenika tvrdi kako mikrovalne pećnice nisu štetne za zdravlje, drugi dio znanstvenika tvrdi upravo suprotno. Prema jednom istraživanju brokula koja se kuhala u mikrovalnoj pećnici izgubila je gotovo sve svoje antioksidanse, njih čak 97%. Istraživanja pokazuju kako se nutritivna vrijednost hrane tretirane u mikrovalnoj pećnici smanjuje za 60-90%, meso obrađeno mikrovalovima sadrži tvari za koje je poznato da uzrokuju rak, a one se stvaraju i u mlijeku i žitaricama obrađenim mikrovalovima. Čak se i pojava pretilosti u razvijenim zemljama podudara s počecima masovnog korištenja mikrovalnih pećnica. No, bez obzira na rezultate istraživanja, ljudi su skloni vjerovati kako mikrovalna pećnica nema nikakav negativan utjecaj na hranu ni na njih same. Je li zapravo tako ili žrtvujemo svoje zdravlje zbog neznanja i nama prikladnijeg i lakšeg pripremanja hrane?



Navedene činjenice zainteresirale su nas da ispitamo ima li mikrovalna pećnica zaista štetan utjecaj na hranu koja se u njoj priprema. Štetan utjecaj mikrovalnog zračenja odlučili smo ispitati koristeći vodu prokuhanu u mikrovalnoj pećnici za klijanje sjemenki i rast graha. Naša je pretpostavka da će sjemenke graha imati smanjenu klijavost ako ih zalijevamo vodom prokuhanom u mikrovalnoj pećnici u odnosu na sjemenke zalijevane vodom prokuhanom na štednjaku ili samo neprokuhanom vodom. Također, pretpostavljamo kako će biljka graha s formiranim organima prestati rasti ako ju počnemo zalijevati vodom prokuhanom u mikrovalnoj pećnici u odnosu na biljku graha koja će se zalijevati vodom prokuhanom na štednjaku.

S obzirom na navedeno, ciljevi ovog istraživačkog rada su:

1. dokazati kako se klijavost sjemenki graha smanjuje ako ih zalijevamo vodom prokuhanom u mikrovalnoj pećnici,
2. dokazati kako se klijavost sjemenki graha ne mijenja zalijevamo li ih vodom prethodno prokuhanom na štednjaku ili neprokuhanom vodom,
3. dokazati kako zalijevanje biljke graha vodom prokuhanom u mikrovalnoj pećnici negativno utječe na rast biljke.

MATERIJAL I METODE RADA

MATERIJAL

U istraživanju koristili smo sljedeći materijal: sjemenke graha (*Phaseolus vulgaris* L.), zemlju za uzgoj sobnog bilja, plastične posude, mikrovalnu pećnicu, plinski štednjak, vodovodna voda.

METODE RADA

KLIJANJE SJEMENKI GRAHA

Šest posuda sa zemljom pripremljeno je za sadnju sjemenki graha. U svaku posudu posađeno je po 10 sjemenki graha vrste *Phaseolus vulgaris* L. na dubinu od 2 cm. Posude su smještene na toplo i osvijetljeno mjesto. Sjemenke graha u prve dvije posude zalijevane su vodom prethodno prokuhanom u mikrovalnoj pećnici i ohlađenoj. Druge dvije posude s posađenim grahom zalijevane su vodom koja je prethodno prokuhana na plinskom štednjaku i ohlađena, a posljednje dvije posude s posađenim grahom zalijevane su vodovodnom vodom koja nije bila prokuhana (kontrolna skupina). Posude su označene kako ne bi došlo do pogreške prilikom zalijevanja. Tijekom iduća dva tjedana prati se i bilježi klijanje graha. Podaci se obrađuju grafički i statistički.

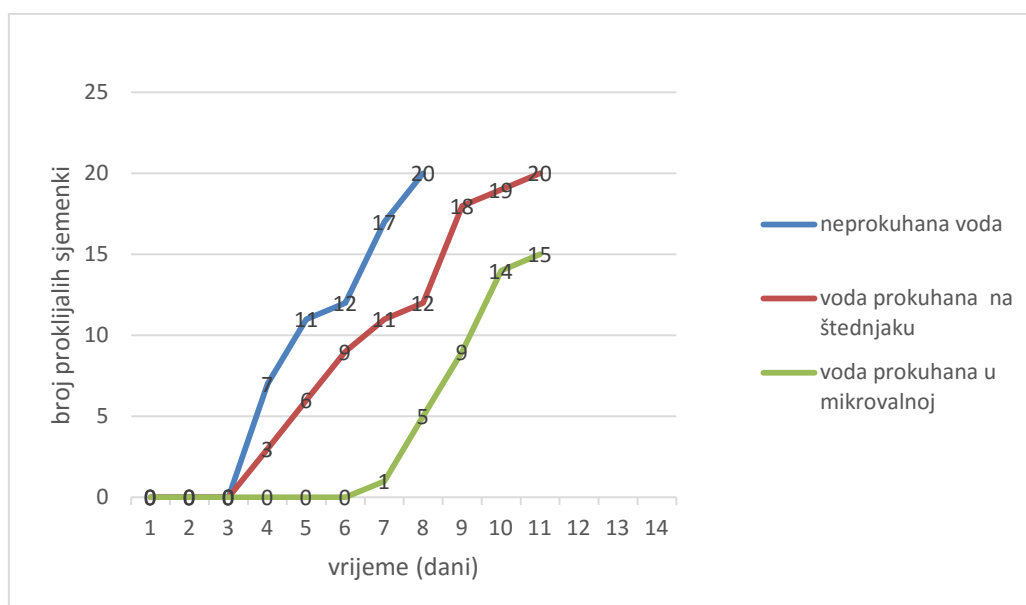
RAST I RAZVOJ BILJKE

Dvije posude sa zemljom pripremljene su za sadnju sjemenki graha. U svaku posudu posađeno je 10 sjemenki graha vrste *Phaseolus vulgaris* L. na dubinu od 2 cm. Posude su postavljene na toplo i osvijetljeno mjesto. Sjemenke su zalijevane vodovodnom vodom. Nakon što je biljka proklijala i formirala biljne organe, jedna skupina biljaka nastavi se zalijevati vodom prethodno prokuhanom u mikrovalnoj pećnici i ohlađenom, a druga skupina biljaka vodom prethodno prokuhanom na plinskom štednjaku i ohlađenom. Tijekom iduća dva tjedna prati se i bilježi daljnji rast i razvoj biljaka.

REZULTATI

KLIJANJE SJEMENKI GRAHA

Šest posuda s posadenim grahom smjestili smo na osvijetljeno mjesto pored radijatora kako bi dobivale jednaku količinu svjetlosti i topline. U svaku posudu posadili smo po 10 sjemenki graha. Posude smo označili kako ne bismo pogriješili pri zalijevanju biljaka. Pratili smo klijanje sjemenki kroz 14 dana od sadnje do klijanja mladih biljaka. Rezultate smo prikazali grafički (Sl. 6.).



Slika 6. Grafikon klijanja sjemenki graha kroz period od 14 dana

S obzirom na to da su sjemenke zalijevane neprokuhanom vodom i vodom prokuhanom na plinskom štednjaku proklijale u isto vrijeme, možemo zaključiti kako se klijavost sjemenki ne mijenja zalijevamo li ih neprokuhanom ili vodom prokuhanom na štednjaku (Sl. 7. i 8.). No, sjemenke koje su zalijevane vodom prokuhanom u mikrovalnoj pećnici počele su kasnije klijati (Sl. 9.). Postotak klijavosti sjemenki zalijevanih neprokuhanom i vodom prokuhanom na štednjaku iznosio je 100%, a kod sjemenki zalijevanih vodom prokuhanom u mikrovalnoj 75% (Sl. 10.).



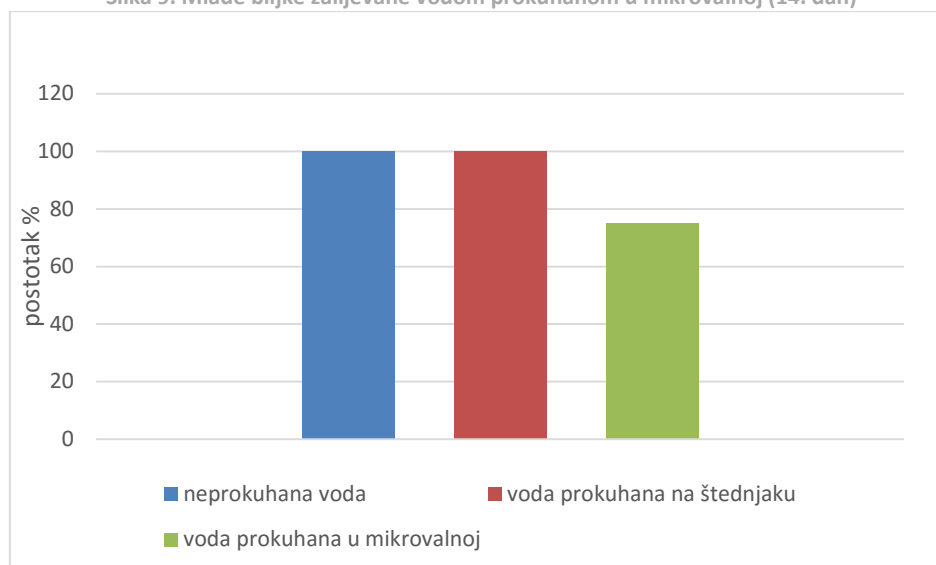
Slika 7. Mlade biljke zalijevane neprokuhanom vodovodnom vodom (14. dan)



Slika 8. Mlade biljke zalijevane vodom prokuhanom na štednjaku (14. dan)



Slika 9. Mlade biljke zalijevane vodom prokuhanom u mikrovalnoj (14. dan)



Slika 10. Grafikon postotka klijavosti sjemenki graha

RAST I RAZVOJ BILJKE

Dvije posude pripremili smo za sadnju sjemenki graha. Sjemenke smo zalijevali neprokuhanom vodom dok nisu proklijale i formirale organe. Zatim smo promijenili vodu za zalijevanje. Jednu posudu smo nastavili zalijevati vodom prokuhanom na plinskom štednjaku, a drugu vodom prokuhanom u mikrovalnoj pećnici. Nakon 3 dana primijetili smo kako su biljke u posudi zalijevanoj vodom prokuhanom u mikrovalnoj pećnici počele venuti. Nakon 8 dana biljke su u potpunosti uvenule, dok su one zalijevane vodom prokuhanom na plinskom štednjaku nastavile rasti (Sl. 11. i 12.).



Slika 11. Biljke zalijevane vodom prokuhanom u mikrovalnoj



Slika 12. Biljke zalijevane vodom prokuhanom na plinskom štednjaku

RASPRAVA

Kao što smo već naveli postoje mnoga istraživanja koja su proučavala utjecaj mikrovalnog zračenja na zdravlje ljudi te klijanje i rast biljaka. I dok neki znanstvenici tvrde kako ne postoji štetan utjecaj mikrovalnog zračenja na živi svijet i hranu tretiranu mikrovalovima, drugi tvrde suprotno.

U prehrambenoj industriji zagrijavanje uz pomoć mikrovalova primjenjuje se u raznim tehnološkim procesima poput sušenja, sterilizacije, pasterizacije, blanširanja i odmrzavanja različitih namirnica. Primjenom mikrovalnog zagrijavanja znatno se skraćuje trajanje pojedinih tehnoloških operacija. Postoje i istraživanja koja pokazuju kako je na taj način moguće postići poboljšanje kvalitete pojedinih proizvoda i povećati njihovu trajnost. Taboršak i Bašić (1984) analizirajući različita istraživanja korištenja mikrovalova u prehrambenoj industriji zaključuju sljedeće: „Izvršena istraživanja dala su ohrabrujuće rezultate naročito pri uklanjanju negativnih učinaka koje uzrokuju postupci klasičnog zagrijavanja. U nekim postupcima postignute su znatne uštede energije, povećana ekonomičnost procesa i produžena trajnost proizvoda.“ Također, Taboršak i sur. (1983) zaključuju kako „... primjena mikrovalova u industriji znatno raste. Razlog tome su mnoge tehnološke prednosti, mogućnost uštede energije i smanjenje ostalih troškova. Kvalitetu proizvoda moguće je povećati, a isto tako može se proizvesti proizvode novih svojstava. Mikrovalovima se mogu tretirati i proizvodi koji su teško podnosili tretiranje klasičnim postupcima zagrijavanja.“

Nažalost nismo uspjeli pronaći istraživanja naših znanstvenika na temu utjecaja mikrovalova na rast i razvoj biljaka. No, u svijetu ta se vrsta istraživanja provodi već duže vrijeme. Tako su Davies i sur. (1971) među prvima istraživali utjecaj mikrovalnog zagrijavanja na sjemenke te zaključili kako ono uništava iste unutar nekoliko dana. Brodie i sur. (2011) proveli istraživanje na dinji, njezinim sjemenkama i plodovima. Rezultati su pokazali kako mikrovalno zračenje uništava biljku i njezine sjemenke. Iste su godine Ragha i sur. provodili istraživanja utjecaja mikrovalnog zračenja na različite vrste sjemenki koja su pokazala kako niske frekvencije mikrovalnog zračenja uništavaju sjemenke dok visoke frekvencije potiču klijavost. Također su zaključili kako povećanje snage mikrovalnog zračenja smanjuje klijanje sjemenki. Gupta i sur. (2013) su tlo u koje su posadili sjemenke gorušice izlagali mikrovalnom zračenju. Njihovi rezultati pokazali su kako izloženost tla mikrovalnom zračenju jačine 90 W u vremenu od 30 do 60 sekundi potiče rast biljaka. NASA-ini istraživači su 2002. godine započeli istraživanja o utjecaju mikrovalnog zračenja na rast biljke lucerne, koja je važna stočna hrana, te zaključili kako niske frekvencije mikrovalnog zračenja ne utječu na njen rast.



U našem istraživanju pokazali smo kako zalijevanje sjemenki vodom izloženom mikrovalnom zračenju usporava i smanjuje klijavost biljaka, te negativno utječe na rast i razvoj mlade biljke. No, s obzirom da na klijanje sjemenki osim vanjskih čimbenika utjecaj imaju i unutarnji čimbenici (zdrava, zrela i ne prestara sjemenka), za relevantnije podatke u daljnjem istraživanju ispitivali bismo utjecaj vode izložene mikrovalnom zračenju na većem broju sjemenki i različitim vrstama sjemenki. Biljke imaju važnu ulogu u održavanju zdravog ekosustava kao glavni proizvođači hrane i kisika. Zbog toga je važno ispitati kako one reagiraju na povećanu izloženost mikrovalnog zračenja u modernom društvu.

ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata našeg istraživanja možemo zaključiti sljedeće:

1. Zalijevanje sjemenki vodom prokuhanom u mikrovalnoj pećnici usporava i smanjuje njihovu klijavost.
2. Nema razlike u klijavosti sjemenki zalijevanih vodom prokuhanom na plinskom štednjaku u odnosu na kontrolnu skupinu.
3. Voda prokuhana u mikrovalnoj pećnici negativno utječe na rast i razvoj biljke.

LITERATURA

- Anonymus, Mikrovalne pećnice – dokazane opasnosti 2012. <http://matrixworldhr.com/>, pristupljeno: 07.10. 2014.
- Bluck J., NASA to test microwave effects on plant growth. <http://www.nasa.gov/>, pristupljeno: 03.02. 2015.
- Brodie G., Ryan C., Lancaster C., 2011. The Effect of Microwave Radiation on Prickly Paddy Melon (*Cucumis myriocarpus*). International Journal of Agronomy vol. 2012: 1-10. <http://www.hindawi.com/journals/ija/2012/287608/>, pristupljeno: 20.01.2015.
- Davis F. S., Wayland J. R., Merkle M. G., 1971. Ultrahigh- frequency electromagnetic fields for weed control: phytotoxicity and selectivity. Science, vol. 173:535–537. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17738439>, pristupljeno: 20.01.2015.
- Gupta A., Singh R., Lehana P., 2013. Effect of Microwaves Treated Soil on Growth of Mustard Plants. International Journal of Engineering and Advanced Technology vol. 2: 808-812. <http://www.ijeat.org/attachments/File/v2i4/D1600042413.pdf>, pristupljeno: 20.01.2015.
- Hagerty J., How Do Microwaves Affect Plants? <http://www.ehow.com/>, pristupljeno: 20.01.2015.
- Quan R., Yang C., Rubinstein S., Lewiston N.J., Sunshine P., Stevenson D.K., Kerner J.A. Jr., 1992. Effects of microwave radiation on anti-infective factors in human milk. Pediatrics 89. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1557249>, pristupljeno: 20.01.2015.
- Ragha L., Mishra S., Ramachandran V., Bhatia M., 2011. Effects of Low-Power Microwave Fields on Seed Germination and Growth Rate. Journal of Electromagnetic Analysis and Applications 3: 165-171. <http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=5024#.VQwTYOG3FhM>, pristupljeno: 20.01.2015.
- Song K., Milner J.A., 2001. The Influence of Heating on the Anticancer Properties of Garlic. The Journal of Nutrition vol. 131 no. 3. <http://jn.nutrition.org/content/131/3/1054S.long>, pristupljeno: 20.01.2015.
- Taboršak N., Bašić V., 1984. Mogućnost primjene mikrovalova u tehnologiji prerade mlijeka. Mljekarstvo, vol. 34, no. 3. http://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=146763, pristupljeno: 03.02.2015.
- Taboršak N., Anić N., Anić K., 1983. Primjena toplinske energije mikrovalova u prehrambenoj industriji. Mljekarstvo, vol. 33, no. 6. http://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=171833, pristupljeno: 03.02.2015.
- Vallejo F., Tomás-Barberán F.A., García-Viguera C., 2003. Phenolic compound contents in edible parts of broccoli inflorescences after domestic cooking. Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 83. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.1585/full>, pristupljeno: 20.01.2015.
- Watanabe F., Abe K., Fujita T., Goto M., Hiemori M., Nakano Y., 1998. Effects of Microwave Heating on the Loss of Vitamin B(12) in Foods. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10554220>, pristupljeno: 20.01.2015.
- Wright M., Patel M. 2001. Štednjaci i mikrovalne pećnice, U Wright M. (ur.), Svijet suvremene tehnologije, Dušević & Kršovnik d.o.o., Rijeka, str. 34-35.

UTJECAJ RAZLIČITIH NAČINA SKLADIŠTENJA, ODMRZAVANJA I PRIPREME MESA NA BROJNOST BAKTERIJA

Marta Paladin, 8. razred

Osnovna škola Stenjevec, Zagreb

Mentor: Katica Nožar

SAŽETAK

Ciljevi istraživačkog rada bili su utvrđivanje vremena za koje meso može stajati na sobnoj temperaturi, utvrđivanje točnosti roka trajanja mesa te utvrđivanje najboljeg načina odmrzavanja i najboljeg načina pripreme mesa s obzirom na brojnost bakterija. Ciljevi su također bili saznavanje prehrambenih navika vezanih uz konzumaciju mesa učenika Osnovne škole Stenjevec te njihove upoznatosti s problematikom istraživanja. Obavljena je *anketa* među roditeljima učenika kojom su dobiveni rezultati vezani uz njihove prehrambene navike. Rezultati ankete pokazali su da učenici i njihovi roditelji meso konzumiraju 19,8 puta mjesečno, da najčešće konzumiraju piletinu i svinjetinu, da smatraju kako meso smije stajati na sobnoj temperaturi 4,2 sata te da meso najčešće odmrzavaju u hladnjaku. Zaključak nakon provedene ankete jest taj da ispitanici imaju dobro razvijene *prehrambene navike* vezane uz *konzumaciju mesa* te da su relativno dobro upoznati s problematikom istraživanja. Kod ispitivanja *skladištenja mesa*, ono je stajalo na sobnoj temperaturi 5 h dok su uzorci mesa uzimani svakih 30 minuta. Istraživano je je li *rok trajanja* točan. Uzimani su uzorci mesa dan prije isteka roka trajanja te dva dana nakon isteka roka trajanja. Na temelju dobivenih rezultata zaključeno je da meso smije stajati na sobnoj temperaturi 3,5 h te da se rok trajanja treba poštivati. Kod ispitivanja različitih *metoda odmrzavanja*, meso je zamrznuto u zamrzivaču te je odmrzavano u mikrovalnoj pećnici, u hladnjaku, na sobnoj temperaturi i na sobnoj temperaturi u posudi s hladnom vodom. Uzeti su uzorci mesa prije i poslije svake metode odmrzavanja te je donesen zaključak da je najsigurnija metoda odmrzavanje u mikrovalnoj pećnici, a da se odmrzavanjem u posudi s hladnom vodom razvija najveći broj bakterija. Ispitivane su i različite metode *pripreme mesa*: *kuhanje*, *pečenje*, *prženje* i *pirjanje*. Uzeti su uzorci mesa prije i nakon pripreme, te je donesen zaključak da su sve metode pripreme mesa veoma dobre jer su uništile više od 90% bakterija, ali najbolja je metoda s obzirom na visoki postotak uništenih bakterija prženje, a najlošija kuhanje.

Ključne riječi: *konzumacija mesa, skladištenje, odmrzavanje priprema*

UVOD

Hrane u današnje vrijeme ima u izobilju, a znatno se povećala konzumacija mesa. Većina ljudi skoro pa svakodnevno konzumira i priprema meso. Pod pojmom meso podrazumijeva se mišićno tkivo, s kožom ili bez nje, ovisno o vrsti stoke, peradi ili divljači. Njemu pripada svo masno i vezivno tkivo, s kostima i hrskavicama, krvnim i limfnim žilama. Meso je zbog svojeg kemijskog sastava izuzetno pogodan medij za rast i razmnožavanje raznih mikroorganizama, dakle i bakterija. Što se tiče bakterijskih vrsta koje možemo pronaći u mesu, prevladavaju gram-negativne bakterije (crijevne bakterije *E. coli*, *Salmonella* spp, te *Pseudomonas* spp), a od gram-pozitivnih najčešće se nalaze laktobacili i enterokoki (Kegalj i sur. 2012.). Prirodno je da meso sadrži te bakterije u malim količinama, ali je problem u tome što se bakterije veoma brzo razmnožavaju pa zbog lošeg tretiranja mesa ono može postati kontaminirano velikom količinom bakterija koje mogu prouzročiti infekcije i bolesti kada dođu u ljudski organizam. Razvoj bakterija na sobnoj temperaturi bolji je od razvoja bakterija na nižim temperaturama, a pri sobnoj temperaturi najčešće bakterije iz skupine *Pseudomonas* (Gilli i Newton, 1980).

Patogene bakterije uzrokuju infekcije – trovanja hranom i hranom prenosive bolesti. Uzročnici tih infekcija obično pripadaju jednoj od ovih skupina bakterija – *Salmonellas* spp, *Campylobacter* spp, *Clostridium perfringens*. Kod trovanja hranom bakterije ispuštaju svoje toksine u hranu pri čemu unosom te hrane u organizam oni odlaze u krv, zbog čega bolest može nastupiti veoma brzo, s



kratkim inkubacijskim razdobljem. Hranom prenosive bolesti uzrokuju iste vrste bakterija, no kod tih bolesti bakterije se unose u organizam, te se one nastanjuju na stijenku crijeva, gdje se razmnožavaju i krvlju prenose u druge organske sustave. Sve bolesti trovanja hranom i hranom prenosive bolesti imaju slične simptome: povišena temperatura, bol u trbuhu, povraćanje i dijareja. Te bolesti su veoma opasne, ostavljaju trajne posljedice u organizmu, a mogu uzrokovati čak i smrt. Za rast i razmnožavanje bakterija idealni su topli i vlažni uvjeti, koji se ostvaruju u ljudskom organizmu, gdje se za osam sati od jedne bakterije može razviti milijun novih, a za dvanaest sati se može razviti i milijarda bakterija (Marinculić i sur., 2009.).

Kako bi se meso moglo konzumirati, ono se priprema na brojne načine. Najčešći načini pripreme mesa su kuhanje, pečenje, pirjanje i prženje. Kuhanje je najjednostavnija metoda pripreme mesa u kojoj se meso stavlja u posudu s vodom te se voda zagrijava do svojeg vrelišta – 100°C. Dok voda ključa, meso ostaje u posudi. Pečenje je metoda pripreme mesa u kojoj se meso stavlja u pećnicu zajedno s uljem i začinima gdje grijači postižu visoku temperaturu (oko 180°C-200°C) i zagrijavaju meso. Pirjanje je metoda pripreme mesa u kojoj se meso reže na manje komade te se priprema na ulju uz dolijevanje vode. Prženje je metoda pripreme mesa u kojoj se meso priprema s uljem, a razlikujemo tzv. „plitko“ i „duboko“ prženje, koje se razlikuju po količini ulja (Vučetić, 1952.).

Yilmaz i suradnici (2005.) istraživali su razliku u različitim načinima pripreme mesa (kuhanje i pečenje te pripremu u mikrovalnoj pećnici) i mikrobiološku aktivnost te su dokazali da se najviše bakterija uništava pripremom u mikrovalnoj pećnici, a najmanje pečenjem.

Meso se skladišti na niskim temperaturama. Niske temperature ograničavaju rast i enzimske aktivnosti mikroorganizama. Smrzavanje u zamrzivačima na temperaturama od oko -20°C potpuno zaustavlja rast bakterija. Hlađenje u hladnjacima na temperaturama od oko 5°C i nižoj produžava trajnost proizvoda, no ne može spriječiti njihovo kvarenje. Kada broj bakterija poraste za 65%, meso se smatra pokvarenim (Duraković, 1996.).

Upravo zbog tako velike opasnosti od trovanja hranom, treba posvetiti veliku pozornost skladištenju, odmrzavanju i pripremi mesa. Zbog užurbanog života, nedostatka vremena te napretka tehnologije, pripremanje hrane promijenilo se u odnosu na prijašnju pripremu hrane. Dostupni su nam mnogobrojni kućanski aparati i proizvodi te možemo reći da zbog toga postoji velik broj mogućnosti za pripremu, odmrzavanje i skladištenje mesa, ali upravo zbog toga ljudi često nisu sigurni koji su pravi postupci da bi se meso zaštitilo od bakterija. Kako bi se izbjegla kontaminacija mesa velikom količinom opasnih bakterija, te ugrožavanje zdravlja naših najbližih, svatko bi trebao biti upoznat s pravilnim postupcima skladištenja, odmrzavanja te pripreme mesa.

OBRAZLOŽENJE TEME

Praktični problem: Slučajevi infektivnih zaraza ljudi uzrokovani lošim skladištenjem mesa nisu rijetkost. Jedini način na koji se takve zaraze mogu spriječiti jest dobro informiranje ljudi o sigurnom skladištenju mesa.



Zašto je to važno? Neinformiranost o problematici bakterija u mesu je štetna za pojedince ali i za cijelu zajednicu. Zbog loših načina skladištenja, odmrzavanja i pripreme mesa velik broj osoba može se zaraziti bolestima uzrokovanim trovanjem hranom. Taj problem odlučila sam riješiti anketom, kojom se mogu saznati prehrambene navike učenika i roditelja, te njihovo poznavanje same problematike istraživanja. Rezultati istraživanja trebaju pomoći zajednici u kojoj živim i ljudima koji me okružuju, stoga je važno sve ljude upoznati s ovim problemom kako bi se podigla razina svijesti o važnosti ispravnog tretiranja mesa.

Praktični problem: Nekada meso iz trgovine ostane predugo stajati u automobilu pa postoji rizik da je pokvareno. Ako nam se pokvari hladnjak pa meso treba stajati na sobnoj temperaturi, često nismo sigurni koliko vremena je to sigurno. Zna se dogoditi da mesu prijeđe rok trajanja, pa ga bacamo.

Zašto je to važno? Budući da se u mesu nalaze bakterije koje uzrokuju infekcije, treba paziti na njihovu brojnost. Ako je meso ostavljeno na sobnoj temperaturi duži vremenski period, to uzrokuje razmnožavanje bakterija jer sobna temperatura pogoduje njihovom razmnožavanju. Želimo biti sigurni hoće li za naše zdravlje biti sigurno konzumirati meso koje je dugo stajalo na sobnoj temperaturi. Bilo bi opasno isprobavati takvo meso zbog opasnosti od infekcija, pa sam upravo iz tog razloga odlučila istražiti ovaj problem. Što se roka trajanja tiče, njega treba poštivati, ali postoje teorije da on nije „istinit“, tj. precizno određen, nego je namjerno označen „uranjen“ rok trajanja kako bismo potrošili novac na novi proizvod. Bilo bi šteta tako bacati novac, ali je isto tako opasno eksperimentirati jer se veoma lako možemo zaraziti. Upravo zbog toga sam odlučila istražiti ovo područje.

Napomena: Postoje dvije mogućnosti za skladištenje mesa: u hladnjaku i zamrzivaču. Budući da postoje samo te dvije opcije, onda mogu biti sigurna da su oba dvije opcije jednako sigurne i dobre. Zbog toga nisu ispitane razlike između tih načina skladištenja mesa, već su u ovome dijelu istraživanja istraživani problemi vezani za skladištenje mesa u hladnjaku, a u idućem dijelu istraživanja koje se bavi odmrzavanjem mesa istraživani su problemi vezani uz skladištenje mesa u zamrzivaču.

Praktični problem: Kada je meso zamrznuto u dubokom ledu, ljudi su često u dvojbi koji je način odmrzavanja najbolji kako bi se izbjegla kontaminacija mesa velikim brojem bakterija. Ovo su osnovni načini odmrzavanja mesa:

- ❖ meso je ostavljeno izvan zamrzivača na sobnoj temperaturi
- ❖ meso je ostavljeno izvan zamrzivača na sobnoj temperaturi u posudi s hladnom vodom
- ❖ meso je ostavljeno u hladnjaku
- ❖ meso je odmrzavano u mikrovalnoj pećnici.

Zašto je to važno? Zamrzavanje se odvija u zamrzivaču (ledenici, škrinji) pri temperaturi od oko -20°C. Kada meso zamrznemo, bakterije, kao i drugi mikroorganizmi, koje ono sadrži ne uništavaju se u potpunosti (kao dezinfekcijskim sredstvima), nego se samo umrtvljuju, te se odmrzavanjem mesa ponovno nastavlja njihova aktivnost. Ovisno o uvjetima odmrzavanja trebao bi se razviti veći ili manji broj bakterija. Ako se meso odmrzava pri višoj temperaturi, bakterija bi trebalo biti više nego u mesu koje se odmrzavalo dulje pri niskoj temperaturi. Zbog toga je raširena tvrdnja da se meso ne smije



odmrzavati u mikrovalnoj pećnici ili na sobnoj temperaturi. To preporuča i USDA (United States Department of Agriculture), no unatoč tome, mnogi ljudi meso odmrzavaju upravo na te načine jer su ti načini najbrži. Zato je važno provjeriti koji je način najsigurniji za naše zdravlje, tj. kojim će načinom odmrzavanja mesa broj bakterija biti najmanji (FSIS, 2015).

Praktični problem: Znamo da je meso bilo izvan hladnjaka dulje nego što je trebalo. Sada se dvoumimo kako pripremiti to meso, a da način pripreme uništi što više bakterija.

Zašto je to važno? Ovaj dio istraživanja veže se na prethodna dva dijela. Kada je meso u idealnim uvjetima, nama nije toliko važno kako ćemo ga pripremiti da se riješimo što većeg broja bakterija. Ali ako znamo da smo meso npr. držali na sobnoj temperaturi predugo, ili da je način odmrzavanja kojim se koristimo bio loš, onda nam je bitno da meso pripremimo na određeni način koji će uništiti najveći broj bakterija.

Ciljevi istraživanja „Utjecaj različitih načina skladištenja, odmrzavanja i pripreme mesa na brojnost bakterija“ postavljeni su na temelju navedenih problema, a to su:

- utvrđivanje vremena za koje meso može stajati izvan hladnjaka na sobnoj temperaturi,
- utvrđivanje točnosti roka trajanja,
- utvrđivanje najboljeg načina za odmrzavanje mesa s obzirom na brojnost bakterija,
- utvrđivanje najboljeg načina pripreme mesa s obzirom na brojnost bakterija,
- saznavanje prehrambenih navika vezanih uz konzumaciju mesa (količina i vrste mesa koje konzumiraju, načini na koje skladište meso itd.),
- saznavanje upoznatosti ljudi sa sigurnim načinima skladištenja, odmrzavanja i pripreme mesa.

Hipoteze:

Moja prva pretpostavka je da je većina ljudi dobro je informirana o skladištenju, odmrzavanju i načinima pripreme mesa. Sljedeća pretpostavka je da ljudi meso drže izvan hladnjaka najviše 2 sata i pridržavaju se roka trajanja napisanog na ambalaži mesnog proizvoda.

Pretpostavljam da će se najviše bakterija razviti u mesu odmrzavanom na sobnoj temperaturi, a najmanje u mesu ostavljenom u hladnjaku, zbog toga što se meso odmrzavano na sobnoj temperaturi odmrzava dulje vremena, a temperatura je dovoljno visoka za umnožavanje bakterija. S druge strane, meso koje se odmrzava u hladnjaku odmrzava se pri niskoj temperaturi koja ne pogoduje bakterijskom razmnožavanju.

Pretpostavljam da će se najviše bakterija riješiti prženjem, jer se prženjem postiže veoma visoka temperatura (od 175°C do 190°C, ovisno o vrsti mesa (http://en.wikipedia.org/wiki/Deep_frying)).

Sljedeća pretpostavka jest da meso može stajati na sobnoj temperaturi 2 sata (Duraković, 1996.).



Moja posljednja pretpostavka je da se meso može pripremati nakon isteka roka trajanja, upravo zbog želje proizvođača za većom zaradom koja se ostvaruje većom potrošnjom mesa potrošača, a jedna od metoda kojom to mogu ostvariti je „uranjen“ rok trajanja.

MATERIJAL I METODE RADA

1. Anketa

Uzorak na kojem je provedena anketa su roditelji učenika petih i osmih razreda Osnovne škole Stenjevec (oko 150 osoba). Razlog zbog kojeg su anketirani roditelji, a ne učenici je taj što su roditelji obično zaduženi za pripremu hrane, te bi oni trebali dati konkretnije i preciznije odgovore vezane uz tu temu. Unatoč tome što su anketirani roditelji, rezultati istraživanja su važni i za djecu, tj. učenike. Anketa je anonimna. Anketni listić je napisan u svrhu istraživanja, te su pitanja usko vezana uz njezinu temu, a ispitanici odgovore daju zaokruživanjem ponuđenih odgovora ili dopisivanjem vlastitih. Anketa je izvršena tijekom prosinca 2014. godine na roditeljskim sastancima u prostorima škole ili su učenici anketne listiće nosili kući te ih vraćali ispunjene. Anketni listić nalazi se u prilogu 1.

2. Eksperimentalno istraživanje

Ovaj dio istraživanja je podijeljen na tri manja dijela (Skladištenje mesa, Odmrzavanje mesa i Priprema mesa). Ti dijelovi istraživanja imaju više zajedničkih faktora. Za početak riječ je o vrsti mesa na kojoj je obavljano istraživanje. Vrsta mesa na kojoj je obavljano istraživanje je piletina za koju je anketom utvrđeno da ju učenici najčešće konzumiraju (ovo je jedini rezultat prikazan u ovom poglavlju, jer ostali rezultati ankete nisu važni za metode rada). Nije se vodilo o računa o proizvođaču mesa, meso je kupovano bez obzira na taj faktor. Kako bi se uštedio novac, za uzimanje uzoraka uvijek je korištena što manja količina mesa - 20 g. Ono što je također zajedničko svim dijelovima istraživanja su metoda kojima su uzimani uzorci mesa te brojane bakterije. To je opisano nakon opisa metoda rada za svaki dio istraživanja.

a) Skladištenje mesa

Istraživano je kako se brojnost bakterija mijenja s vremenom stajanja mesa izvan hladnjaka. Zavisna varijabla je vrsta mesa koja je ista, a nezavisna varijabla je vrijeme za koje je meso stajalo izvan hladnjaka, koja je mijenjana. Meso je izvađeno iz hladnjaka te je ostavljeno da stoji na sobnoj temperaturi. Termometrom je izmjerena temperatura pri kojoj je meso stajalo te je temperatura očitana svaki put kad je uzet uzorak mesa. Za početak je uzet uzorak mesa netom nakon vađenja iz hladnjaka (kontrola). Zatim su uzimani uzorci mesa svakih 30 minuta dok meso nije stajalo izvan hladnjaka ukupno 5 sati. Uzorci su odmah nakon uzimanja nasađivani na agar. Ukupno je uzeto 22 uzoraka mesa jer su rađena dva ponavljanja.

Također je istraživano je li rok trajanja mesa doista točan. Zavisna varijabla je vrsta mesa koja je ista, a nezavisna varijabla je vrijeme koje je prošlo nakon isteka roka trajanja. Meso kupljeno u trgovini je stajalo u hladnjaku. Dan prije isteka roka trajanja je uzet uzorak mesa te je nanesen na agar. Na dan isteka roka trajanja mesa ponovno je uzet uzorak mesa, te isto tako još 2 dana nakon isteka roka trajanja. Uzorci mesa su uzimani 2 puta dnevno. Ukupno je uzeto 20 uzoraka mesa, jer su rađena dva ponavljanja. Kontrolni uzorak je uzorak uzet dan prije isteka roka trajanja.

b) Odmrzavanje mesa

Istraživano je kako se brojnost bakterija mijenja s obzirom na način odmrzavanja mesa. Zavisna varijabla je vrsta mesa koja je ista, a nezavisna varijabla su različite metode odmrzavanja mesa koje su mijenjane. Za ovaj dio istraživanja za početak je bio potrebno zamrznuti meso. Meso je u plastičnoj vrećici stavljeno u zamrzivač na temperaturu od oko -18°C . Odmrzavanje mesa se obavljalo na ove načine:

- *meso je ostavljeno izvan zamrzivača na sobnoj temperaturi*

Meso je izvađeno iz zamrzivača i iz vrećice te je stavljeno na tanjur. Tamo je ostavljeno dok se ne odmrzne u potpunosti.

- *meso je ostavljeno izvan zamrzivača na sobnoj temperaturi u posudi s hladnom vodom*

Meso je izvađeno iz zamrzivača te je u vrećici ostavljeno da stoji u hladnoj vodi dok se u potpunosti ne odmrzne.

- *meso je ostavljeno u hladnjaku*

Meso je izvađeno iz zamrzivača i vrećice, te je na tanjuru stavljeno u hladnjak, gdje je ostavljeno dok se ne odmrzne.

- *meso je odmrzavano u mikrovalnoj pećnici*

Meso je izvađeno iz zamrzivača i vrećice te je stavljeno na tanjur, koji je ostavljen u mikrovalnoj pećnici. Mikrovalna pećnica koja je korištena ima automatski program za odmrzavanje, te je taj program namješten.

Na taj način je uzeto 20 uzoraka mesa (jer je za svaki način odmrzavanja mesa rađeno četiri ponavljanja, a kontrolni uzorak je uzorak mesa prije zamrzavanja – rađena su četiri ponavljanja). Budući da škola ne posjeduje zamrzivač koji bi se mogao koristiti za istraživanje, meso je zamrzavano kod kuće te je odmrzavano kod kuće. Paženo je na to da se održe što bolji uvjeti rada pa su svi predmeti koji su korišteni u radu dezinficirani pomoću etilnog alkohola. Uzorkovanje mesa je obavljeno u školskom laboratoriju, te je transport mesa do škole bio obavljen u što kraćem vremenu, a meso nošeno u dezinficiranoj posudi.



Slika 1 – Pripremanje mesa prije zamrzavanja

c) Priprema mesa

Istraživano je kako različiti načini pripreme mesa utječu na brojnost bakterija. Zavisna varijabla je vrsta mesa koja je ostala ista, a nezavisna varijabla su različiti načini pripreme mesa koji su mijenjani.

Meso je pripremljeno na više načina:

- *Kuhanje* (Za kuhanje je korišten lonac s količinom vode oko 1 litre. Meso je stavljeno u lonac. Nakon ključanja vode zbog male količine mesa, meso je kuhano 15 minuta.)
- *Prženje* (Za prženje je korišten plitki lonac i suncokretovo ulje. Meso je stavljeno u plitki lonac te je prženo sa svake strane 5 minuta.)
- *Pečenje* (Meso je pečeno u pećnici na temperaturi od 200°C. Za pečenje je korištena teflonska posuda i ulje. Količina mesa nije bila velika, pa je meso pečeno 15 minuta.)
- *Pirjanje* (Meso je pirjano na tavi. Korišteno je malo ulja i vode. Meso je pirjano 5 minuta.)



Slika 2 – Meso pripremljeno na različite načine

Ukupno je uzeto 20 uzoraka mesa (rađena su četiri ponavljanja za svaki način pripreme mesa, te je za kontrolni uzorak uzeto sirovo meso koje je kasnije pripremljeno – četiri ponavljanja). Budući da školski laboratorij u kojem je obavljano istraživanje nije imao uvjete za pripremu mesa, priprema mesa obavljena je kod kuće. Svaki način pripreme mesa obavljen je kako se obavlja svakodnevno, dakle korišteni su svi sastojci osim začina koji se inače koriste. Uzorci mesa uzeti su sterilnim nožem te su uzeti bez vanjskog dijela mesa kontaminiranog drugim bakterijama. Uzorci mesa su u sterilnim vrećicama odneseni u školski laboratorij.

Uzimanje uzoraka mesa

Ono što je zajedničko svim dijelovima istraživanja je način na koji su uzorci mesa uzorkovani, tj. kako su uzorci mesa uzimani te nasađivani na hranjivu podlogu. Hranjiva podloga koja je korištena je agar. Agar je najbolja hranjiva podloga za ovu svrhu jer je najjednostavnije izbrojati kolonije bakterija. Uzorci mesa su uvijek uzimani u sterilnim uvjetima kako bi se kontaminacija mesa drugim bakterijama svela na minimum. Pri rukovanju s mesom nošene su sterilne rukavice te je nož kojim su se uzimali uzorci mesa uvijek dezinficiran. Dezinfekcijsko sredstvo koje je korišteno je etilni alkohol. Nisu se uzimali uzorci mesa s njegove vanjske površine jer to lako može postati kontaminirano bakterijama koje ne pripadaju mesu. Broj bakterijskih kolonija bi bilo teško i gotovo nemoguće izbrojati da su uzorci samo naneseni bez razrjeđivanja. Uzorci mesa su razrjeđivani s fiziološkom otopinom na koncentraciju od 10%. To je rađeno tako da se meso u dezinficiranom tarioniku s tučkom „razmekšalo“ te je u dezinficiranu menzuru stavljeno meso da zauzme 1/10 obujma (točan obujam je varirao za svaki uzorak, no iznosio je oko 5 cm²), a u ostalih 9/10 obujma je stavljena fiziološka otopina. Sadržaj menzure je izmiješan te je tekući sadržaj pretočen u laboratorijsku čašu. Zatim je pomoću sterilnog štapića za uzimanje brisova uzet uzorak tekućeg sadržaja te je taj uzorak nasađen na agar u petrijevoj zdjelici, tako da je cik-cak potezima štapićem pređeno po površini agara.



Slika 3 – Otopina dobivena razrjeđivanjem mesa u menzuri

Brojanje kolonija bakterija

Kolonije bakterija su izbrojane pomoću povećala, a brojanje je izvršeno 72 sata nakon nasađivanja uzoraka na agar. Za preciznije određivanje broja kolonija bakterija sadržaj petrijeve zdjelice u kojoj se razvilo puno kolonija bakterija (koje je teško izbrojati povećalom) precrtan je na milimetarski papir te je izračunato koliko se bakterijskih kolonija razvilo na 1 cm^2 . Zatim je taj broj pomnožen s ukupnom površinom koju bakterije zauzimaju u petrijevoj zdjelici.

Obrada podataka

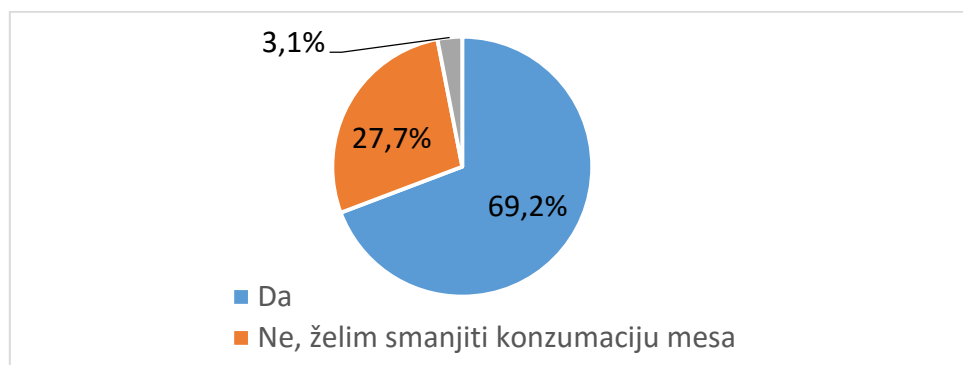
Obrada podataka je izvršena u računalnom programu Excel. Podatci dobiveni u anketi obrađivani su tako da se tražila prosječna vrijednost svih odgovora, tj. obrađeni su svi anketni listići, te se tražio prosječni odgovor koje su dale sve ispitane osobe. Neki odgovori obrađeni su tako da je izračunato koliki je postotak uzorka dao odgovor na određeno pitanje. Odgovori na pitanja su prikazani u kružnom grafikonu. Pitanja za koje je bilo moguće dati više od jednog odgovora nisu mogla biti prikazana u takvim grafikonima, već su odgovori prikazani u stupčastim grafikonima.

Kod obrade podataka za eksperimentalno istraživanje, za svaki dio istraživanja su obrađena sva ponavljanja te je određena prosječna vrijednost na temelju tih ponavljanja. U istraživanju različitih metoda skladištenja, gdje je istraživano kako se brojnost bakterija mijenja sa stajanjem mesa na sobnoj temperaturi izrađen je linearni grafikon koji prikazuje odnos broja bakterija od kontrolnog uzorka do uzorka gdje je meso stajalo na sobnoj temperaturi najdulje. Na isti način prikazani su rezultati gdje je istraživao rok trajanja, gdje je za početnu vrijednost uzet kontrolni uzorak, a završnu vrijednost uzorak gdje je meso stajalo najdulje nakon isteka roka trajanja. Za svako vrijeme izračunato je koliko se posto promijenio broj bakterija s obzirom na kontrolni uzorak. U istraživanju različitih metoda odmrzavanja mesa rezultati su prikazani u stupčastim grafikonima pomoću kojih je prikazan odnos najbolje i najgore metode odmrzavanja s obzirom na brojnost kolonija bakterija. U istraživanju različitih metoda pripreme mesa rezultati su prikazani u stupčastom grafikonu gdje je prikazan odnos najbolje i najgore metode pripreme mesa s obzirom na brojnost bakterija. Također je izračunat postotak koji pokazuje koliko dobivena vrijednost odstupa od kontrole.

REZULTATI

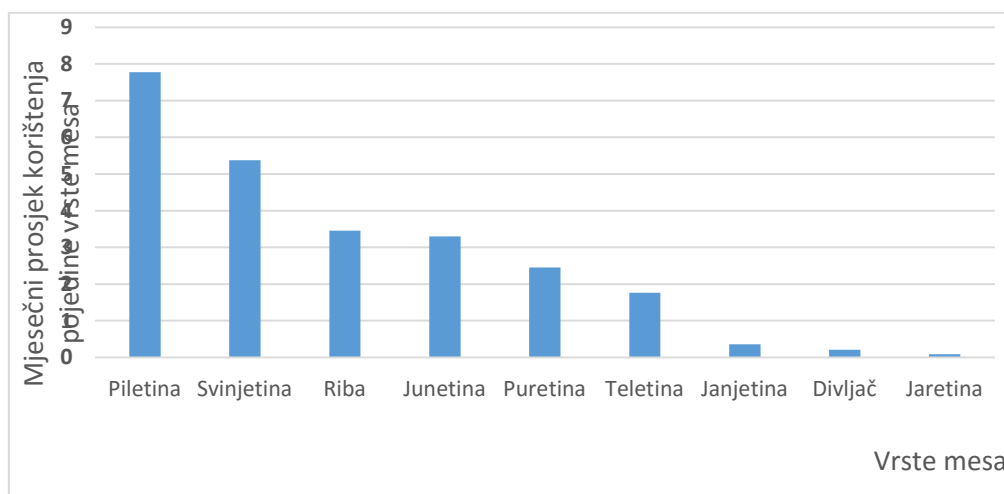
1. Anketa

Nakon obavljene ankete utvrđen je broj anketiranih osoba, koji iznosi 154. Ispitane osobe meso konzumiraju u prosjeku 19,8 puta mjesečno. Utvrđeno je da je većina ispitanika (69,2%) zadovoljna mjesečnom konzumacijom mesa, dok 27,7% ispitanika konzumaciju mesa želi smanjiti, a 3,1% ispitanika želi je povećati (Slika 1).



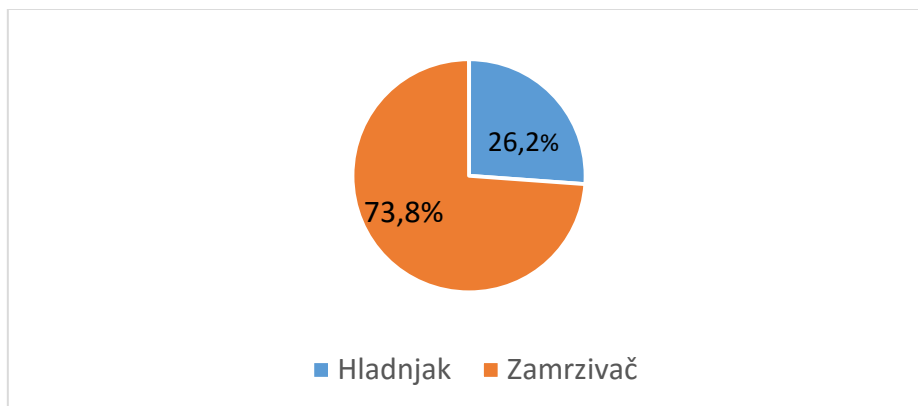
Slika 4 – Rezultati za pitanje „Jeste li zadovoljni mjesečnom konzumacijom mesa?“

Ispitanici najčešće konzumiraju piletinu (7,8 puta mjesečno), zatim slijedi svinjetina (5,4 puta mjesečno). Ribu konzumiraju 3,5 puta mjesečno, junetinu 3,3 puta mjesečno, puretinu 2,5 puta mjesečno, a teletinu 1,8 puta mjesečno. Najmanje konzumiraju janjetinu, divljač i jaretinu - manje od jednom mjesečno (Slika 2).



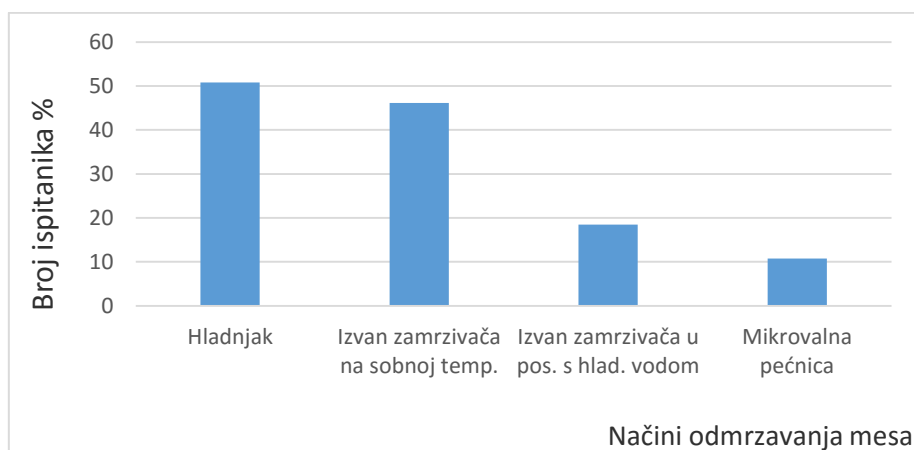
Slika 5 – Rezultati za pitanje „Koje vrste mesa konzumirate?“

Ispitanici najčešće meso skladište u zamrzivaču (73,8%), a meso u hladnjaku skladišti njih 26,2% (slika 3). U prosjeku smatraju da meso izvan hladnjaka smije stajati 4,2 sata. Nitko od 154 ispitane osobe neće upotrijebiti meso kojem je prošao rok trajanja te smatraju da ne smije proći niti jedan dan od datuma napisanog na ambalaži proizvoda.



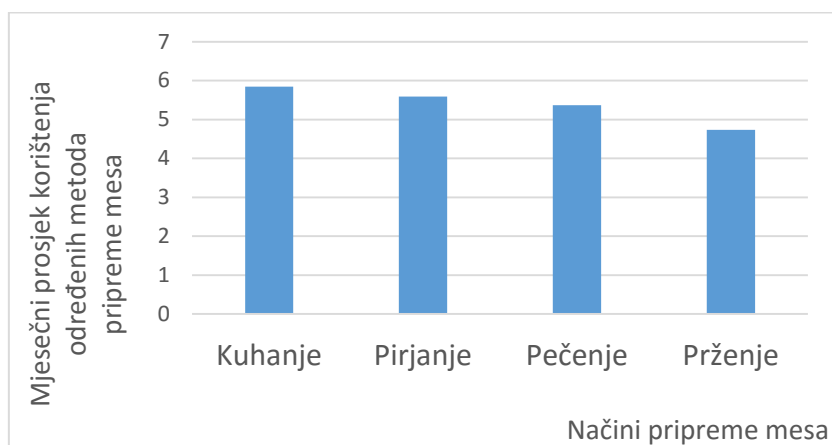
Slika 6 – Rezultati za pitanje „Kako najčešće skladištite meso?“

Najviše ispitanika odmrzava meso u hladnjaku (50,8%), zatim izvan hladnjaka na sobnoj temperaturi (46,2%), njih 18,5% meso odmrzava izvan hladnjaka u posudi s vodom, a samo 10,8% ispitanika meso odmrzava u mikrovalnoj pećnici (slika 4).



Slika 7 – Rezultati za pitanje „Kako najčešće odmrzavate meso?“

Ispitanici meso najčešće kuhaju (5,8 puta mjesečno), zatim pirjaju (5,6 puta mjesečno). Meso peku 5,4 puta mjesečno te ga prže 4,7 puta mjesečno (slika 5).

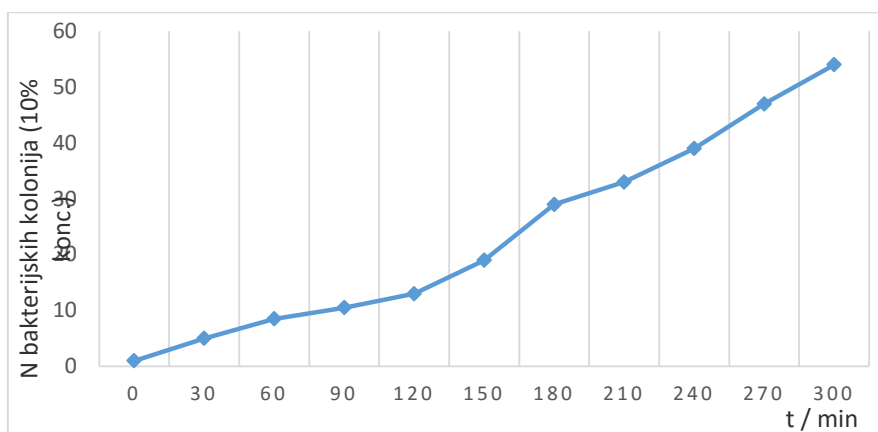


Slika 8 – Rezultati za pitanje „Kako najčešće pripremate meso?“

2. Eksperimentalno istraživanje

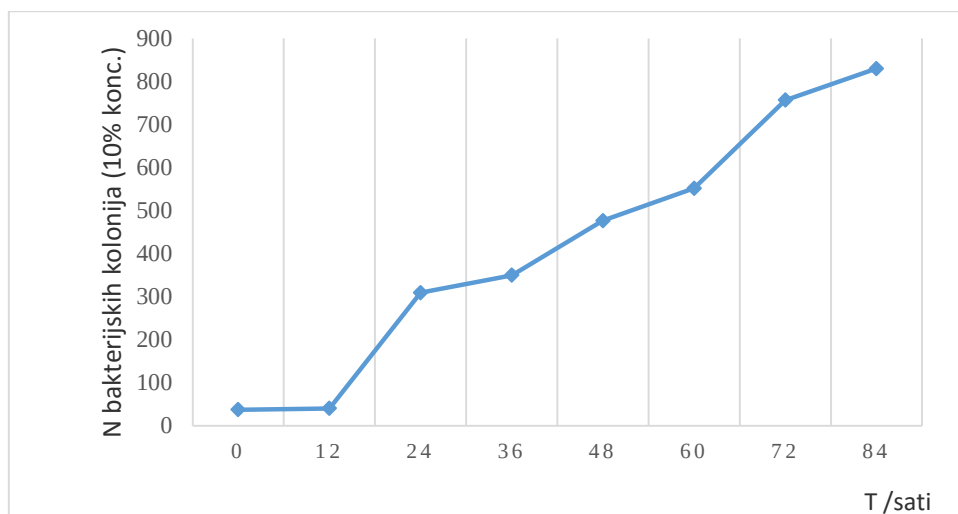
a) Skladištenje mesa

Uzorci mesa uzimani su svakih 30 minuta, a za svaki uzorak je napravljeno dva ponavljanja. Početni uzorak mesa je ujedno i kontrolni uzorak. Nakon vađenja mesa iz hladnjaka broj kolonija bakterija je u prosjeku iznosio 1 (pri 10% koncentraciji), a završno mjerenje je pokazalo da je broj bakterijskih kolonija 54 (slika 6). Broj kolonija bakterija kod ostalih mjerenja se nalazi u tablici u prilogu 2. Izmjerena temperatura u prostoriji u kojoj je stajalo meso iznosi 20°C te se nije mijenjala. Detaljnija tablica s rezultatima nalazi se u prilogu 2.



Slika 9 – Prikaz povećanja broja bakterijskih kolonija pri vremenu stajanja mesa na sobnoj temperaturi. Broj bakterijskih kolonija prikazan je za 10% koncentraciju.

Broj bakterijskih kolonija u uzorku mesa dan prije isteka roka trajanja je u prosjeku iznosio 37,33 (pri 10% koncentraciji). Taj broj je neprekidno rastao. Na dan isteka roka trajanja se višestruko povećao (iznosio je u prosjeku 309,33). Meso je tog dana izgledalo u redu, nije se osjetio nikakav poseban miris, no već dan nakon toga meso je imalo intenzivniji miris, a broj bakterijskih kolonija je kod završnog mjerenja iznosio 830 (slika 7). Detaljniji rezultati nalaze se u tablici u prilogu 3.

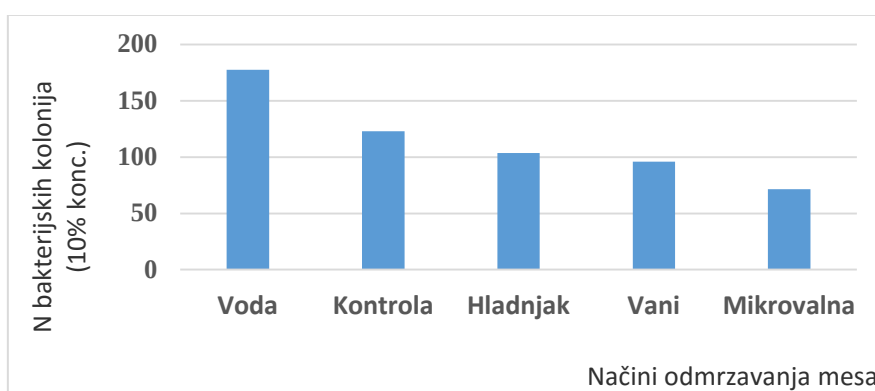


Slika 10 – Prikaz povećanja broja bakterijskih kolonija pri vremenu skladištenja mesa nakon isteka roka trajanja. Broj bakterijskih kolonija je prikazan za 10% koncentraciju.



b) Odmrzavanje mesa

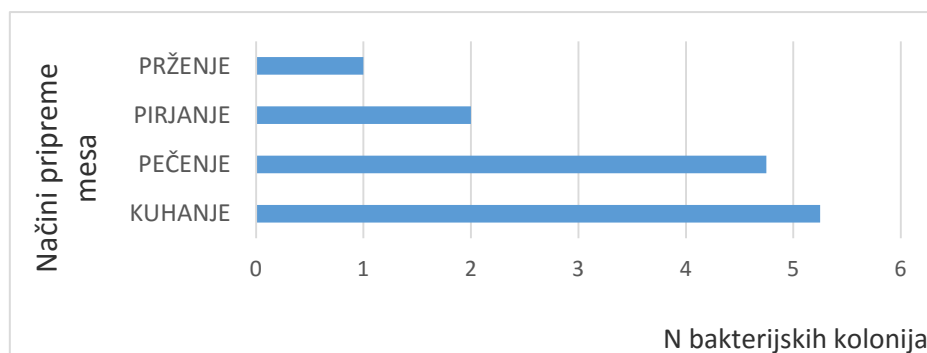
Prosječan broj bakterijskih kolonija u kontrolnom uzorku mesa iznosi 123. Kod svih metoda odmrzavanja mesa (osim u odmrzavanju na sobnoj temperaturi u posudi s vodom) taj se broj smanjio. Najviše bakterijskih kolonija razvilo se kod odmrzavanja mesa izvan hladnjaka u posudi s vodom – 177,5, što znači da je broj bakterija od onih zabilježenih kod kontrole porastao za 44,31%. Ostale metode odmrzavanja su pokazale znatno niže rezultate. Metodom odmrzavanja u hladnjaku se razvilo u prosjeku 103,5 bakterijskih kolonija. Metodom odmrzavanja na sobnoj temperaturi se razvilo 96 bakterijskih kolonija. Metoda kod koje se broj bakterija znatno smanjio je odmrzavanje u mikrovalnoj pećnici, jer se prosječno razvilo 71,5 kolonija bakterija, što je 41,87% manje od kontrole (slika 8). Detaljniji rezultati nalaze se u prilogu 4.



Slika 11 – Prikaz rezultata za ispitivanje raznih načina odmrzavanja mesa. Broj bakterijskih kolonija prikazan je za 10% koncentraciju.

c) Priprema mesa

Za kontrolu (meso koje nije tretirano na niti jedan način) izbrojeno je 550 bakterijskih kolonija. To je stvaran broj bakterijskih kolonija, uvećan s obzirom na koncentraciju od 10% na koju je meso razrjeđivano. Za uzorak kuhanog mesa izbrojano je u prosjeku 5,25 bakterijskih kolonija, za uzorak pečenog mesa izbrojano je njih 4,75, za uzorak pirjanog mesa izbrojano je 2, a za uzorak prženog mesa izbrojana je jedna kolonija bakterija (slika 9). Svi načini pripreme uništili su veliki postotak bakterija. Najefikasnija metoda pripreme je prženje, jer je uništeno 98,18% bakterija. Zatim slijedi pirjanje, kojim je uništeno 96,36% bakterija. Pečenjem je uništeno 91,36% a kuhanjem 90,45% bakterija. Tablica se nalazi u prilogu 5.



Slika 12– Prikaz rezultata za različite načine pripreme mesa ispitivane u istraživanju



RASPRAVA

Nakon provedene ankete je utvrđeno da ispitanici meso skladište veoma često (19,8 puta mjesečno). To je dalo još veću važnost rezultatima istraživanja jer je broj ljudi koji konzumira meso velik te će dobiveni rezultati biti korisni velikom broju ljudi. Vrste mesa koje konzumiraju su ipak raznolike, kao i načini pripreme mesa koje primjenjuju. Većina načina kojima ispitanici tretiraju meso pri pripremi, skladištenju i odmrzavanju pokazali su se ispravnima, što znači da su uglavnom dobro upoznati s problematikom ovog istraživanja te da imaju dobre prehrambene navike vezane uz konzumaciju mesa.

Rezultati ispitivanja različitih metoda odmrzavanja mesa su zanimljivi jer se ne slažu s hipotezama postavljenim na početku. Kod mesa odmrzavanog na sobnoj temperaturi nije se razvilo najviše bakterija, a kod mesa odmrzavanog u hladnjaku nije se razvilo najmanje bakterija, kako je glasilo u postavljenim hipotezama. Objašnjenje za to što se u mesu koje je stajalo izvan hladnjaka u vodi razvilo više bakterija od mesa koje je stajalo samo na sobnoj temperaturi je povezano s toplinskim kapacitetom vode i zraka. Zrak ima manji toplinski kapacitet od vode te zbog toga voda ima sposobnost zadržavanja topline i bržeg postizanja neke temperature, za razliku od zraka. Meso je u oba slučaja stajalo vani dva sata, no voda kojim je meso bilo okruženo, brže se zagrijala te je njezina toplina pogodovala rastu bakterija. Vlažnost bi također mogla biti jedan od faktora jer, unatoč tome što meso nije bilo u kontaktu s vodom, bilo je zatvoreno vrećicom, pa je voda isparavala i kondenzirala se. Kod mesa koje je stajalo vani, voda je mogla jednostavno ispariti, pa bakterije nisu imale idealne uvjete za razmnožavanje. Velika brojnost bakterija kod odmrzavanja mesa u hladnoj vodi može se spriječiti redovitim mijenjanjem vode (tako da meso stalno bude u hladnoj vodi), no u tom slučaju proces odmrzavanja bio bi duži. Kod mesa odmrzavanog u hladnjaku broj bakterija nije se povećao u odnosu na kontrolu, no razlog zbog kojeg ta metoda odmrzavanja ipak nije najbolja kao što je pretpostavljeno u hipotezi, moglo bi biti dugo vrijeme odmrzavanja te vlažnost u hladnjaku, koja bakterijama koje se uspijevaju razmnožavati na nižim temperaturama daje poticaj na taj proces. U hladnjaku je meso moglo doći u doticaj s bakterijama iz neke druge hrane, koje su također mogle doprinijeti ukupnom broju bakterija. Odmrzavanje u mikrovalnoj pećnici najsigurniji je način odmrzavanja, zbog kratkog vremena odmrzavanja i previsoke temperature za većinu bakterijskih vrsta. Ti se rezultati ne slažu s literaturom Ministarstva poljoprivrede SAD-a (FSIS, 2015) koja govori o dobrom utjecaju odmrzavanja u mikrovalnoj pećnici na razvoj bakterija. U istraživanju spomenutom u uvodu (Yilmaz i sur., 2005.) dokazali su da je priprema u mikrovalnoj pećnici najbolja s obzirom na brojnost bakterija, a očito je da to možemo usporediti i s odmrzavanjem. Unatoč tome, jako malo ispitanika odmrzava meso u mikrovalnoj pećnici dok velik broj ispitanika meso odmrzava u hladnjaku. Najlošiju metodu odmrzavanja u hladnoj vodi ne primjenjuje velik broj ljudi.

Rezultati s pripremom mesa su u skladu s postavljenom hipotezom – prženje je najsigurnija metoda za pripremu mesa. To se može objasniti jako visokom temperaturom koju zagrijano ulje postiže, a na kojem se meso priprema. Unatoč tome, često prženje hrane nije preporučljivo zbog velike količine masti te visoke kalorijske vrijednosti. Sve metode pripreme mesa su veoma dobre jer uništavaju više od 90% bakterija. Kod pečenja se postiže temperatura od skoro 200°C, a kod kuhanja oko 100°C pa je zato kuhanje najlošija od svih metoda. Pirjanje je dobra metoda pripreme mesa ako se želimo riješiti



velikog broja bakterija premda se ne postiže jako visoka temperatura. Meso se pri pirjanju reže na manje komadiće, te zbog toga jaka toplina dolazi do mesa sa više strana, i zato se takvom pripremom mesa uništava mnogo bakterija. Dobiveni rezultati razlikuju se od rezultata istraživanja Yilmaz i sur. 2005., jer su oni dokazali da je kuhanje bolja metoda pripreme mesa od pečenja.

Nakon istraživanja vremena za koje je meso stajalo na sobnoj temperaturi utvrđeno je da se nakon 210 minuta (3,5 sata) broj bakterijskih kolonija povećao za 60%. Nakon što je broj bakterija dosegao tu vrijednost, nije preporučljivo konzumirati meso s većom vrijednošću. Hipoteza postavljena na početku istraživanja nije točna jer meso na sobnoj temperaturi može stajati duže od vremena spomenutog u literaturi (Duraković, 1996.) koje iznosi 2 sata. Bakterije se bolje razmnožavaju na sobnoj temperaturi nego u hladnjaku, što dokazuje razlika između prvog i završnog mjerenja, čime se ostvaruje sličan rezultat kao i kod istraživanja spomenutog u uvodu (Gill i Newton, 1980).

Anketirane osobe smatraju da meso izvan hladnjaka u prosjeku smije stajati oko 4,2 sata. Za to vrijeme broj bakterijskih kolonija poraste za 72%, te takvo meso nije sigurno za upotrebu. Treba naglasiti da je istraživanje rađeno za vrijeme zimskih mjeseci pa rezultati mogu biti drugačiji u razdoblju ljeta (broj bakterija bi mogao biti još veći). Upravo zbog toga za vrijeme ljeta treba dodatno paziti na skladištenje mesa jer su u to vrijeme godine trovanja hranom veoma česta.

Meso kojem je istekao rok trajanja nikako se ne smije konzumirati zbog veoma velikog broja bakterija. Postavljena hipoteza nije bila točna. Proizvođači mesnih proizvoda na ambalažu stavljaju točan datum isteka roka trajanja. Možda kod drugih prehrambenih proizvoda to nije tako, no to također treba istražiti. Osobe ispitane u anketi ne konzumiraju meso kojem je istekao rok trajanja, što je dobro.

ZAKLJUČCI

Osobe ispitane u anketi imaju dobre prehrambene navike što se tiče konzumiranja mesa te su uglavnom upoznate s pravilima sigurnog postupanja s mesom u njegovoj pripremi, odmrzavanju i skladištenju.

Meso izvan hladnjaka na sobnoj temperaturi može stajati 3,5 sata bez opasnosti od infekcije zbog velikog broja bakterija.

Datum roka trajanja napisan na ambalaži mesnog proizvoda je točan i treba ga poštivati.

Svi načini odmrzavanja mesa (osim odmrzavanja u posudi s hladnom vodom): odmrzavanje u hladnjaku, vani na sobnoj temperaturi i u mikrovalnoj pećnici smanjuju broj bakterija u odnosu na početni broj. Najbolji način za odmrzavanje mesa zbog najmanjeg broja bakterija je odmrzavanje u mikrovalnoj pećnici, a najlošiji način za odmrzavanje mesa je odmrzavanje u hladnoj vodi, pri čemu se broj bakterija povećava.

Svi načini pripreme mesa su veoma dobri jer uništavaju više od 90% bakterija. Najbolji način pripreme mesa s obzirom na broj bakterija je prženje, a najlošiji način pripreme mesa je kuhanje.



Utjecaj različitih načina skladištenja, odmrzavanja i pripreme mesa na brojnost bakterija

Mentor:
Nožar K.

LITERATURA

- A. Kegalj, M. Krvavica, I. Ljubičić., 2012. Raznolikost mikroflore u mesu i mesnim proizvodima, Meso: prvi hrvatski časopis o mesu, 3; 239-246.
- Anonymous, Deepfrying, http://en.wikipedia.org/wiki/Deep_frying, Pristupljeno 3.3.2015.
- C.O. Gill, K.G. Newton, 1980: Growth of bacteria on meat at room temperature, Meat Industry Research Institute of New Zeland, Hamillton, New Zeland
- FSIS 2015. http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/safe-food-handling/the-big-thaw-safe-defrosting-methods-for-consumers/CT_Index, Pristupljeno 3.3.2015.
- Marinculić, Marinculić, Habrun, Barbić, Beck., 2009. Biološke opasnosti u hrani, Dr. Sc. Z. Jurković, Hrvatska agencija za hranu, Osijek
- Senadin Duraković, 1996. Primijenjena mikrobiologija, Prof. Dr. Branko Karlović, Prehrambeno tehnološki inženjering, Zagreb
- Vučetić M, 1952. Kuharstvo, Poljoprivredni nakladni zavod, Zagreb
- United States Department of Agriculture, Meat Price Spreads, <http://www.ers.usda.gov/data-products/meat-price-spreads.aspx>, Pristupljeno 3.3.2015.
- United States Department of Agriculture, Safe Defrosting Methods for Consumers, http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/safe-food-handling/the-big-thaw-safe-defrosting-methods-for-consumers/CT_Index, Pristupljeno 3.3. 2015.
- World health organization, TheFive Keys to Safer Food Programme, <http://www.who.int/foodsafety/consumer/5keys/en/>, Pristupljeno 3.3.2015.
- Yilmaz, M. Arici, T. Gumus., 2005: Changes of microbiological quality in meat balls after heat treatment, European Food Research and Technology, vol. 221

ZASTUPLJENOST GOLOSJEMENJAČA U PARKOVIMA GRADA SAMOBORA

Magdalena Biškup, 8c

Lucija Škiljan, 8c

OŠ Bogumila Tonija, Samobor

Mentor: Nataša Kletečki

SAŽETAK

Istraživali smo golosjemenjače u tri parka koja su na području Samobora zaštićena kao spomenici vrtne arhitekture. To su park Wagner, park Mojmir i park Bistrac. Svojim smo istraživanjem utvrdili ukupno 21 vrstu golosjemenjača. Najmanja je raznolikost porodica uočljiva u parku Bistrac, a najveća u parku Wagner. Analizom golosjemenjača prema geografskom podrijetlu u parku Wagner dominiraju vrste iz Sjeverne Amerike, a najmanje su zastupljene europske vrste sa samo 7,69%. U parku Mojmir jednakim su udjelom 27,27% zastupljene vrste iz Europe i Azije, a najvećim su udjelom 36,36% zastupljene vrste iz Sjeverne Amerike. Analizom sličnosti između proučavanih parkova najveća je sličnost uočena je između parkova Wagner i Mojmir iznosi 27, 27%, dok je najmanja sličnost uočena između parkova Mojmir i Bistrac i iznosi 5, 88%. Utvrdili smo mnogo egzotičnih vrsta, zanimljive su sa znanstvenog gledišta, no i s kulturno-povijesnog i rekreacijskog, te turističkog gledišta.

Ključne riječi: *spomenici vrtne arhitekture, Samobor, golosjemenjače*

UVOD

Zemljopisne značajke istraživane područja

Istraživanje smo vršile na području grada Samobora, koji se nalazi u podnožju Samoborskog gorja nedaleko od Zagreba. Njime protječe rječica Gradna. Samoborsko gorje zauzima krajnje sjeveroistočne dijelove Žumberačkog gorja s kojim čini jedinstvenu cjelinu. Prema zapadu i sjeveru Samoborsko je gorje omeđeno potokom Bregana, na istoku podnožjem gorja koje ide od naselja Bregana prema Samoboru, Rakovici i Svetoj Nedelji, a na jugu Okić gradom (Šugar, 1972).

Biologija biljnih vrsta

Prije samog istraživanja biljnog svijeta upoznali smo se sa osnovama botanike. Grane biologije čiji su predmet proučavanja biljke.

Kako bi se lakše snalazili pri opisivanju vrsta, znanstvenici su srodne skupine biljaka ujedinili u više ili niže sistematske jedinice. Tako rod obuhvaća srodne vrste, porodice srodne rodove dok red objedinjuje srodne porodice. Redovi se svrstavaju u podrazrede, razrede, pododjeljke i odjeljke. Biljne vrste koje smo prikupljali tijekom svog istraživanja pripadaju stablašicama. Stablašice se dijele na tri velike skupine, tj. tri odjeljka: mahovine, papratnjače i sjemenjače (golosjemenjače i kritosjemenjače). Predmet našeg istraživanja bile su golosjemenjače. Golosjemenjače su starije i primitivnije u odnosu na kritosjemenjače i sve su drvenaste biljke. Naziv su dobile po tome što su njihovi sjemeni zametci, iz kojih nastaju sjemenke, goli i slobodni i nisu zatvoreni u plodnici kao što je to slučaj kod kritosjemenjača. Mogu biti smješteni na različite načine: na stapci, na preobraženim listovima ili pak na ljuskavim listovima. U nekih golosjemenjača ljuskavi listovi koji na sebi nose sjemene zametke oblikuju ženski češer. Češeri mogu biti ženski i muški (često u obliku rese), stoga na jednoj biljci imamo i muške i ženske češere (npr. jela i bor) ili rijeđe na jednoj biljci imamo muške, a na drugoj ženske češere (npr. borovica). Kod bora sjemeni zametci leže na proširenim sjemenim ljuskama (češerima). Ne oblikuju sve golosjemenjače češere npr. tisa. Kod tise su sjemeni zametci

pričvršćeni u pazušcu listova ženske biljke i obavijeni su sitnim ljuskama. Građa sjemenih zametaka je kod svih sjemenjača istovjetna što ukazuje na njihovo srodstvo (Dolenec i Rusak, 2010).

Pojava parkovnog uređenja u gradu Samoboru

O povijesnim vrtovima i perivojima u Samoboru postoji vrlo malo podataka, dokaz o njihovom postojanju jest karta grada Samobora iz 1861.g. koju je izradio Petar Antun Praunsperger. Vrtovi i perivoji nastaju uz kuće, dvorce, kurije i crkve (iznimno samostali perivoji npr. Anindol) i to iz temeljnog malog vrta uz kuću obitelji. Samoborski perivoji i vrtovi potječu iz 18. i 19. st. svrstavamo ih u barokne perivoje i vrtove (Horvat, 2005) i među njima uočavamo niz različitosti. Oblikovali su ih domaći majstori, a možemo ih podijeliti u četiri kategorije:

1. geometrijski oblikovani vrtovi

- vrt oko dvorca obitelji Kralić današnji gradski Muzej
- podjela cjelokupnog vrta u pravilne gredice obrubljene cvijećem i grmljem;
- staze se sijeku pod pravim kutom;
- parterni vrtovi bez drveća.

2. Pejzažno oblikovani vrtovi:

- površine s vijugavim stazama, pojedinačnim drvećem i skupinama drveća i grmlja (park Bistrac)
- uređeni travnjaci
- najbrojniji na samoborskom području
- ucrtani na kartama iz 1861.g.

3. Pejzažno - geometrijski oblikovani perivoji

- manje su zastupljeni na samoborskom području
- sastoje se od geometrijski oblikovanog dijela vrta uz kuću i od pejzažno oblikovanog dijela sa skupinama drveća i stazama (park Wagner) (Sl.1).



Slika 1. Park Wagner

4. Slobodno oblikovani perivoji

- mnogi vrtni elementi, ali nijedan nije naglašen
- skupine drveća i grmlja tvore kompaktni prostor
- ostaci staza, klupa ukazuju na relativno noviji oblikovani perivoj ili vrt (Giznik- Reiser).



OBRAZLOŽENJE TEME

Grad Samobor svojom je ljepotom stoljećima privlačio posjetitelje, a neki od njih izabrali su ga za svoj trajan ili privremeni dom. Iznimno je bogat dvorcima, ljetnikovcima i kurijama, a mnogi su okruženi prelijepim parkovima. Danas Samobor broji 22 parka (Horvat, 2005) od kojih su tri zakonom zaštićena kao spomenici vrtne arhitekture. Sve navedeno saznali smo proučavajući botanička istraživanja na području grada Samobora i pronašli čak tri rada vezana uz floru drvenastih biljaka Samoborskih parkova (Karavla, 1984; Toš, 1989; Horvat, 2005). Čitajući ih, zainteresirale smo se za ovu temu, a tijekom izrade plana istraživanja odlučile smo istraživati samo četinjače. Zašto? Uglavnom tijekom zime ne gube lišće, te ih je puno lakše pronaći i odrediti u vremenskom periodu koji nam je bio na raspolaganju. Budući da je Samobor iznimno bogat parkovima, a mi smo za svoje istraživanje imale malo vremena, izabrali samo floristički najvrednije parkove, parkove koji su zaštićeni kao spomenici vrtne arhitekture. Svojom smo temom željeli povezati biologiju i povijest, te saznati što više o kulturnoj i povijesnoj baštini našeg grada. Na početku smo se svog istraživanja upoznale s osnovnom metodologijom istraživanja koja se koristi u ovom području biologije.

Ciljevi našeg istraživanja su:

- prikupiti biljni materijal četinjača (grančice, češere) i herbarizirati ga
- odrediti vrste četinjača
- utvrditi prisutnost neke vrste golosjemenjača u istraživanom parku/staništu prema literaturnim podacima
- provesti taksonomsku analizu zabilježenih vrsta
- analizirati geografsko porijeklo zabilježenih vrsta
- odrediti sličnost u vrstama golosjemenjača između istraživanih parkova

Dobivene rezultate objavit ćemo na internetskim stranicama naše škole. Nadamo se da će naše istraživanje biti još jedan prilog poznavanju flore drvenastih biljaka parkova našeg grada. Tijekom svog istraživanja surađivali smo s djelatnicima JU Zeleni prsten Zagrebačke županije koja u svojoj nadležnosti ima i monitoring nad zaštićenim dijelovima prirode Zagrebačke županije kojima pripadaju i spomenici vrtne arhitekture.

MATERIJAL I METODE RADA

Područje istraživanja

Park u Samoboru u Langovoj ulici 39 - park Wagner

Smješten je u središtu grada u neposrednoj blizini glavnog trga. Nastao je 1878. g. uz kuću Wagner-Bilokapić kao mali pejzažni perivoj s vrijednim i skladnim skupinama drvenastog bilja.

Park Mojmir, Giznik 43, Samobor

Park Mojmir se nalazi na blago nagnutoj sjeverozapadnoj padini Gizničkog brijega. Podigao ga je u drugoj polovici prošlog stoljeća sudac Stjepan Drčić oko svoje vile. Kompozicija parka je u slobodnom stilu. U središnji je dio parka nekad bio simetrično zasađen živicom od šimšira i grmova božura.

Park u Bistracu, Samobor

Park u Bistracu nalazi se iznad ceste Samobor-Bregana. Udaljen je od Samobora 2,5 km. Osnovali su ga njezini prvi vlasnici Ruic de Roxas, a oblikovan u slobodnom stilu (<http://www.priroda-zagrebacka.hr/web/samobor-park-u-langovoj>).



Rad na terenu

Rad na terenu sastojao se od prikupljanja grančica i češera golosjemenjača. Sakupljanje smo provodili tijekom ljeta, jeseni i zime 2014. godine. Prikupljene biljne dijelove herbarizirali smo na terenu.

Rad u laboratoriju

Osušeni, herbarizirani, biljni materijal ulagali smo u herbar s odgovarajućom herbarskom etiketom na kojoj je napisano ime vrste, nalazište, stanište i nadnevak ubiranja te tko je biljku sakupio i odredio. Tijekom određivanja vrsta koristili smo se lupom. Od literature smo koristili: Javorka-Csapodi (1991), Domac (1994), Rotmaler (2000), Vidaković i Franjić (2004).

Determinirane vrste uspoređivali smo sa literaturnim podacima (Karavla, 1984; Toš, 1989; Horvat, 2005) prema području istraživanja/staništu.

Obrada podataka

Sabrani biljni materijal podvrgli smo slijedećim analizama:

- ❖ Taksonomskoj analizi
- ❖ Analizi zastupljenosti porodica u određenom parku/staništu
- ❖ Analizi pripadnost vrsta određenom parku/staništu
- ❖ Analizi vrste prema geografskom podrijetlu

Pri tome su upotrebljene slijedeće oznake:

Az = Azija, z. Az. = zapadna Azija, M. Az. = Mala Azija, Eur. = Europa, j. Eur. = južna Europa, Medit. = Mediteran, s. Afr. = sjeverna Afrika, J. Am. = Južna Amerika,

S. Am. = Sjeverna Amerika, hort. = kultivari ili križanci, Cirkumbor. = cirkumborealna.

Analizirali sličnosti između lokaliteta pomoću Sørensenovog koeficijenta (Štamol, 1985):

$$S = \frac{2c}{a+b} \times 100$$

c – broj zajedničkih vrsta na dva staništa
a – ukupni broj vrsta na prvom staništu
b – ukupni broj vrsta na drugom staništu

REZULTATI

Taksonomska analiza flora

U svom popisu koristile smo se isključivo hrvatskim i latinskim nazivima, usklađenim prema Vidakoviću i Franjić (2004) i navedeni su latinski i hrvatski nazivi svojti.

Odjeljak: PHYNOPHYTA (GYMNOSPERMAE) – GOLOSJEMENJAČE

Porodica: GINGOACEAE, ginka

Rod: GINKGO L., ginko

1. *Ginkgo biloba* L. ginko

Porodica: PINACEAE, borovke

Rod: ABIES, Mill., jela

2. *Abies cephalonica* Loud grčka jela



3. *Abies concolor* Engelm. koloradska jela

4. *Abies pinsapo* Boiss. Španjolska jela

5. *Abies nordmanniana* Spach. kavkaska jela

Rod: PSEUDOTSUGA, duglazija

6. *Pseudotsuga menziesii* varr. *menziesii*, duglazija

Rod: TSUGA, Carr., čuga

7. *Tsuga canadensis* Carr., kanadska čuga

Rod: PICEA Dietr., smreka

8. *Picea abies* f. *viminalis* Lindman, obična smreka

Rod: LARIX Link., lariši

9. *Larix sibirica* Ledeb., sibirski ariš

Rod: CEDRUS Link., cedrovi

10. *Cedrus libani* Loud, libanonski cedar

Rod: PINUSI L., borovi

11. *Pinus strobus* L., vajmutovac, američki borovac

Porodica: TAXODIACEAE

Rod: SEQUOIADENDRON Buchh.

12. *Sequoiadendron giganteum* Buchh., golema sekvoja, golemi mamutovac

Rod: CRYPTOMERIA

13. *Cryptomeria japonica* D. Don., japanska kriptomerija

Porodica: CUPRESSACEAE

Rod: CHAMAECYPARIS Spach., pačempres

14. *Chamaecyparis lawsoniana* „Glaucua“ Park.

15. *Chamaecyparis obtusa* Randl., himalajski pačempres

Rod: THUJOPSIS Sieb. et Zucc., hiba

16. *Thuja dolabrata* Sieb et Zucc., hiba

Rod: THUJA L., tuja

17. *Thuja occidentalis* L., obična američka tuja

18. *Thuja orientalis* L., obična azijska tuja

19. *Thuja plicata* D. Don., golema tuja

Rod: JUNIPERUS L., borovica, kleke

20. *Juniperus virginiana* L., virginijska borovica

Porodica: TAXACEAE

Rod: TAXUS L., tisa

21. *Taxus baccata* 'Erecta', europska tisa

Tablica 1 - Zastupljenost pojedinih taksonomskih kategorija na istraživanom području

RAZRED	BROJ PORODICA	BROJ RODOVA	BROJ VRSTA
Odjeljak golosjemenjača	5	15	21

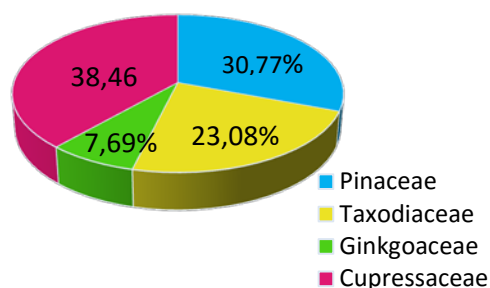
Iz tablice 1. je vidljivo kako je ukupno zabilježena 21 vrsta golosjemenjača svrstana unutar pet porodice i 15 rodova.

Analiza evidentiranih vrsta prema staništima

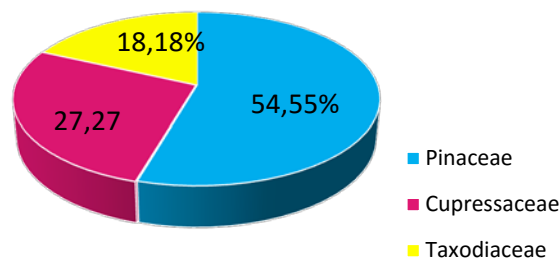
Na slikama 2., 3. i 4. vidi se zastupljenost pojedinih porodica golosjemenjača prema parkovima u kojima su evidentirane. Najmanja je raznolikost porodica uočljiva u parku Bistrac.

U parku Wagner najzastupljenija je porodica *Cupressaceae* sa 38,46%, a najmanje je zastupljena porodica *Ginkgoaceae* sa 7,69% vrsta. U parku Mojmir najzastupljenija je porodica *Pinaceae* sa 54,55%, a najmanje je zastupljena porodica *Taxodiaceae* sa 18,18%.

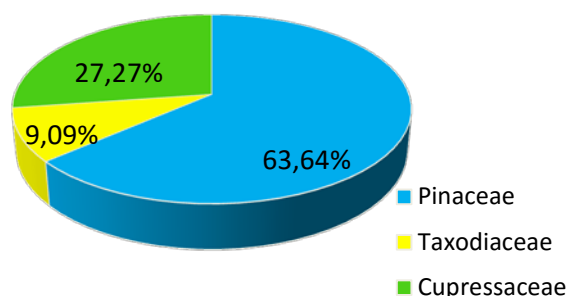
U parku Mojmir najzastupljenija je porodica *Pinaceae* sa 63,64%, a najmanje je zastupljena porodica *Taxodiaceae* sa 9,09%.



Slika 2. Zastupljenost pojedinih porodicama golosjemenjača u parku Wagner



Slika 3. Zastupljenost pojedinih porodicama golosjemenjača u parku Mojmir



Slika 4. Zastupljenost pojedinih porodicama golosjemenjača u parku Bistrac

Analiza pripadnost vrsta određenom parku/staništu

Analizom pripadnosti određenih vrsta golosjemenjača prema parkovima/staništima zabilježili smo 12 vrsta u parku Wagner, 10 vrsta u parku Mojmir i 7 vrsta u parku Bistrac.

Tablica 2. Pripadnost zabilježenih vrsta golosjemenjača po parkovima/staništima

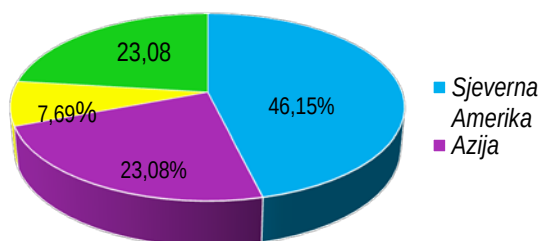
LATINSKI/NARODNI NAZIV BILJKE	PARK-stanište		
	Park Wagner	Park Mojmir	Park u Bistracu
<i>Ginkgo biloba</i> L.	+	-	-
<i>Abies cephalonica</i> Loud	+	-	-
<i>Abies concolor</i> Engelm.	+	+	-
<i>Abies pinsapo</i> Boiss.	-	+	-
<i>Abies nordmanniana</i> Spac.	-	-	+
<i>Pseudotsuga menziesii</i> varr. <i>menziesii</i>	-	-	+



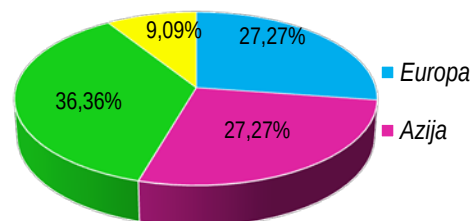
<i>Tsuga canadensis</i> Carr.	+	-	-
<i>Picea abies f. viminalis</i> Lindman	-	+	+
<i>Larix sibirica</i> Ledeb.	-	+	-
<i>Cedrus libani</i> Loud	+	-	-
<i>Pinus strobus</i> L.	-	-	+
<i>Sequoia giganteum</i> Bach	+	+	-
<i>Cryptomeria japonica</i> D. Don.	-	-	+
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i> Park.	+	+	-
<i>Chamaecyparis obtusa</i> Randl.	-	+	-
<i>Thujopsis dolabrata</i> Sieb et Zucc.	+	+	-
<i>Thuja occidentalis</i> L.	+	-	+
<i>Thuja orientalis</i> L.	-	+	-
<i>Thuja plicata</i> D. Don.	+	-	+
<i>Juniperus virginiana</i> L.	+	+	-
<i>Taxus baccata</i> 'Erecta'	+	-	-
UKUPNO	12	10	7

Analiza vrsta prema geografskom podrijetlu biljke

Na slikama 5., 6. i 7. vidi podrijetlo golosjemenjača prema parkovima u kojima su evidentirane. U parku Wagner (Slika 5) dominiraju vrste iz Sjeverne Amerike, a najmanje su zastupljene europske vrste sa samo 7, 69%. U parku Mojmir (Slika 6) jednakim su udjelom 27, 27% zastupljene vrste iz Europe i Azije, a najvećim su udjelom 36, 36% zastupljene vrste iz Sjeverne Amerike.

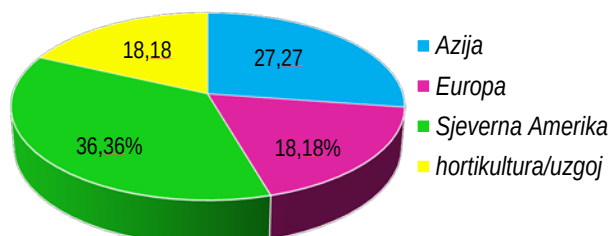


Slika 5. Geografsko podrijetlo golosjemenjača u parku Wagner



Slika 6. Geografsko podrijetlo golosjemenjača u parku Mojmir

U parku Bistrac (Slika 7.) najvećim su udjelom zastupljene vrste iz Sjeverne Amerike 36, 36%, slijede iz vrste iz Azije (27,22%), a s istim su udjelom 18, 18% zastupljene vrste iz Europe i uzgojene vrste.



Slika 7. Geografsko podrijetlo golosjemenjača u parku Bistrac



Analiza sličnosti između parkova/staništa pomoću Sørensenovog koeficijenta

Najveća sličnost uočena je između parkova Wagner i Mojmir i iznosi 27, 27%, dok je najmanja sličnost uočena između parkova Mojmir i Bistrac i iznosi 5, 88% (Tablica 3.).

Tablica 3. Sličnost u broju golosjemenjača prema između istraživanih parkova/staništa

	Wagner	Mojmir	Bistrac
Wagner	0	-	-
Mojmir	27,2%	0	-
Bistrac	10,53%	5,88%	0

RASPRAVA

Istraživanjem golosjemenjača u parkovima Mojmir, Wagner i Bistrac utvrdili smo 21 vrstu golosjemenjača. Iz tablice 1 je vidljivo kako je zabilježeno 15 rodova golosjemenjača svrstanih unutar pet porodice, a iz tablice 2 vidljivo je kako u parku Wagner zabilježeno 12, parku Mojmir 10, a parku Bistrac 7 vrsta golosjemenjača. Na slikama 2, 3 i 4 vidi se zastupljenost pojedinih skupina golosjemenjača prema parkovima u kojima su evidentirane. Najmanja je raznolikost porodica uočljiva u parku Bistrac. Analizom golosjemenjača prema geografskom podrijetlu (Slika 5, 6 i 7) u parku Wagner (Slika 5) dominiraju vrste iz Sjeverne Amerike, a najmanje su zastupljene europske vrste sa samo 7,69%. U parku Mojmir (Slika 6) jednakim su udjelom 27,27% zastupljene vrste iz Europe i Azije, a najvećim su udjelom 36,36% zastupljene vrste iz Sjeverne Amerike. Analizom sličnosti između proučavanih parkova najveća je sličnost uočena je između parkova Wagner i Mojmir iznosi 27, 27%, dok je najmanja sličnost uočena između parkova Mojmir i Bistrac i iznosi 5, 88% (Tablica 3). Iz svih navedenih analiza uočavamo kako se bogatstvom vrsta ističe park Wagner. Vrste u ovom parku pokazuju najveću raznolikost i prema svojem podrijetlu. Najveća se sličnost uočava između parkova Wagner i Bistrac što možemo objasniti činjenicom da se nalaze vrlo blizu na istoj geološkoj i pedološkoj podlozi. Park Bistrac se nalazi na rubu šume hrasta kitnjaka i običnog graba na drugačijoj pedološkoj i geološkoj podlozi. Dendrološka inventarizacija istraživanih parkova i u predhodnim razdobljima (Karavla, 1994) dokazala je postojanju mnogih egzota. One su interesantne sa znanstvenog gledišta tj. botaničkog i šumsko-uzgojnog, zatim parkovnog za urbano šumarstvo te kulturno- kulturno-povijesnog i rekreacijskog te turističkog gledišta. Na području Samoborskih parkova nalazi se ukupno 161 taksona i to uglavnom egzota u ukupno 22 parka. Domaće (autohtone) vrste kod toga nisu evidentirane. U parkovima se mogu promatrati i proučavati ekološki odnosi glede bioloških svojstava pojedinačnih vrsta. Posebno je interesantno proučavanje aklimatizacije pojedinih vrsta koje rastu u toplijim dijelovima naše zemlje, a prilagodile su se uvjetima podneblja i mikroklima staništu samoborskog područja. Za hortikulturu i šumarstvo predstavljaju te različite vrste, križanci i kultivari sjemensku bazu i matični materijal za razmnožavanje reznicama i cjepljanjem. Bogatstvo Samoborskog područja ukrasnim taksonima i mogućnost širenja rasadničarske djelatnosti za potrebe ukrasne (ornamentalne) hortikulture može doći do izražaja samo ako budemo znali cijeniti to bogatstvo koje imamo, stručno i znalački koristiti, a i s njime gospodariti. Dosadašnji način upravljanja i njegovanja pojedinih vrlo vrijednih parkova upozorava nas i nalaže nam, da kod toga rada moramo biti vrlo pažljivi i neprekidno obavljati nadzor i voditi brigu. Slaba njega, a donekle i nemarnost, te



nepoznavanje tih vrijednih kulturno-povijesnih i estetskih vrijednosti doveli su do priličnog smanjenja dendro-bilja u nekim starim i vrlo vrijednim parkovima (Kravala, 1994). Pregledom terna uočili smo kako je samo park Mojmir održavan od strane vlasnika, dok druga dva parka nisu na što ukazuje i njihova vidljiva devastacija. Prema informacijama Javne ustanove za upravljanje zaštićenim dijelovima prirode Zagrebačke (županije <http://www.priroda-zagrebicka.hr/web/samobor-park-u-langovoj>) broj vrsta se u smanjuje zbog vremenskih nepogoda ili neodržavanja parkova. Svakako bi trebalo joj puno raditi promociji zaštite spomenika vrtne arhitekture ne samo u Samoboru nego i u cijeloj Hrvatskoj.

ZAKLJUČCI

Tijekom svojih istraživanja došli smo do slijedećih rezultata:

- ukupno smo utvrdili 21 vrstu.
- zabilježeno je 15 rodova golosjemenjača svrstanih unutar pet porodice, a od toga u parku Wagner zabilježeno 12, parku Mojmir 10, a parku Bistrac 7 vrsta golosjemenjača.
- najmanja je raznolikost porodica uočljiva u parku Bistrac, a najveća u parku Wagner.
- analizom golosjemenjača prema geografskom podrijetlu u parku Wagner dominiraju vrste iz Sjeverne Amerike, a najmanje su zastupljene europske vrste sa samo 7,69%. U parku Mojmir jednakim su udjelom 27,27% zastupljene vrste iz Europe i Azije, a najvećim su udjelom 36,36% zastupljene vrste iz Sjeverne Amerike.
- najveća je sličnost uočena je između parkova Wagner i Mojmir iznosi 27, 27%, dok je najmanja sličnost uočena između parkova Mojmir i Bistrac i iznosi 5, 88%.

Svojim smo istraživanjem utvrdili potvrdili prisustvo mnogo egzotičnih vrsta u samoborskih parkovima koje su zanimljive sa znanstvenog, kulturno-povijesnog, rekreacijskog i turističkog gledišta.

LITERATURA

- Dolenec Z., Rusak G. 2010. Živi svijet 2: udžbenik za drugi razred gimnazije. Profil, Zagreb, str. 124-128
- Domac R. 1994. Mala flora Hrvatske i susjednih područja. Školska knjiga, Zagreb.
- Horvat M. 2005. Razvoj parkovnog uređenja i oblikovanja zelenih površina grada Samobora. Diplomski rad. Šumarski fakultet, Zagreb
- Javorka - Csapodi A. 1991. Iconographia florae partis Austro-orientalis akademiei kiado, Budapest
- Kravala J. 1994. Dendrološka i šumsko uzgojna važnost starih parkova u Samoboru. Šumarski list 7-8: 221-233.
- Penzar B., Penzar I. 1982. Prikaz godišnjeg hoda oborina u Hrvatskoj pomoću Köppenove sheme, Radovi 17-18: 3-9.
- Rothmaler W. 1995. Eskursionsflora von Deutschland 3. Gustav Fisher Verlag Jena, Stuttgart.
- ŠTAMOL V (1985) Cenološka istraživanja puževa (Gastropoda) u šumskim fitocenoza Medvednice. Magistarski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, str. 15-17.
- Šugar I. 1972. Biljni svijet Samoborskog gorja. Disertacija. Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, str. 170 – 214
- Toš B. 1989. Povijesno ekološke te dendrološke karakteristike starih parkova u Samoboru. Diplomski rad. Šumarski fakultet, Zagreb.
- Vidaković M., Franjić J. 2004. Golosjemenjale. Šumarski fakultet sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
- JU ZELENI PRSTEN ZAGREBAČKE ŽUPANIJE <http://www.priroda-zagrebicka.hr/web/samobor-park-u-langovoj/>> pristupljeno 10.3.2015.

ZAŠTITA VODOZEMACA OD STRADAVANJA NA PROMETNICAMA

Bernarda Flinčec, 8. razred

Sanja Gregorinčić, 8. razred

Osnovna škola Gornji Mihaljevec, Gornji Mihaljevec

Mentor: Sara Janković

SAŽETAK

Vodozemci se smatraju najugroženijom skupinom kralježnjaka na Zemlji. Glavnim uzrokom smanjenja populacija vodozemaca smatra se upravo promjena i uništavanje staništa, što je proučavano u ovom istraživanju. Cilj istraživanja bio je utvrditi učinkovitost metode postavljanja zaštitne ograde na smanjenje smrtnosti vodozemaca na prometnici Črečan-Macinec na kojoj je već godinama primijećeno masovno stradavanje vodozemaca. Učinkovitost metode pratila se za vrijeme proljetnih migracija prema mrijestilištima tijekom 2013. i 2014. godine, pri čemu su utvrđene migracijske karakteristike populacije vodozemaca. Od zabilježenih 5 vrsta vodozemaca, najbrojnija vrsta bila je smeđa krastača (95% jedinki), a zatim slijedi šumska smeđa žaba (3,7% jedinki), što je posljedica intenzivne migracije ovih vrsta na mriješćenje u istraživanom razdoblju. Najveća smrtnost zabilježena je također kod jedinki smeđe krastače. Uočena je pojačana migracija vodozemaca po kišnom vremenu, a analiza spolne strukture pokazala je da u migraciji dominiraju mužjaci smeđe krastače. S obzirom da je najveći dio zabilježene populacije vodozemaca koja je sudjelovala u migraciji uspješno prenesen u kanal Trnavu (79% 2013. i 88% 2014.), metoda postavljanja zaštitne ograde pokazala se uspješnim načinom zaštite vodozemaca od stradavanja na prometnicama.

Ključne riječi: *vodozemci, brojnost jedinki, smeđa krastača (Bufo bufo), zaštitna ograda, migracija, smrtnost, crna točka.*

UVOD

O vodozemicima

Prije 360 milijuna godina, u staro doba geološke prošlosti Zemlje (paleozoik), kopno je počela osvajati nova skupina organizama – vodozemci, lat. Amphibia (Janev Hutinec i sur., 2013). S obzirom da su se razvili iz skupine riba mesoperki, građom tijela i načinom života ostali su još uvelike vezani uz vodu (Džapo i sur., 2013). Vodozemce karakterizira složeni životni ciklus koji uključuje preobrazbu od ličinke koja živi u vodi i diše škrgama, do odrasle jedinke koja živi na kopnu i diše plućima (Šemnički i sur., 2013). Zbog toga se smatra da vodozemci vode „dvostruki“ život (Džapo i sur., 2013). Koža vodozemaca tanka je, propusna i ispunjena žlijezdama, a služi i kao pomoćni organ za disanje. Imaju promjenjivu temperaturu tijela, što znači da njihova temperatura ovisi o vanjskim uvjetima (Džapo i sur., 2013). Zimu preživljavaju u stanju mirovanja, zakopani u mulju ili šuplinama u tlu. Većina vodozemaca u Hrvatskoj aktivna je noću radi zaštite od grabežljivaca i manjeg gubitka vode preko kože (Janev Hutinec i sur., 2013).

U rano proljeće započinje sezona razmnožavanja vodozemaca pri čemu odrasle jedinke putuju prema vodenim staništima. Mužjaci obično dolaze prvi na mjesto parenja te svojim kreketanjem nastoje privući ženke (Džapo i sur., 2013). Ženke ispuštaju jajašca u vodu, dok se mužjaci drže na njihovim leđima i istovremeno spermijima oplođuju jaja. Taj se proces naziva mriještenje (Džapo i sur., 2013).

Vodozemci u Hrvatskoj i Međimurskoj županiji

Hrvatsku faunu vodozemaca odlikuje, u europskim razmjerima, velik broj vrsta. Do danas je zabilježeno 20 vrsta vodozemaca, od čega 13 vrsta žaba i 7 vrsta repaša. Prema Pravilniku o strogo zaštićenim vrstama (NN 144/13) u Hrvatskoj je strogo zaštićeno 12 vrsta vodozemaca. To su crveni



mukač (*Bombina bombina* (Linnaeus, 1761)), žuti mukač (*Bombina variegata* (Linnaeus, 1758)), zelena krastača (*Bufo viridis* (Laurenti, 1768)), gatalinka (*Hyla arborea* (Linnaeus, 1758)), mala zelena žaba (*Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882)), močvarna smeđa žaba (*Rana arvalis* Nilsson, 1842), šumska smeđa žaba (*Rana dalmatina* Fitzinger in Bonaparte, 1838), lombardijska smeđa žaba (*Rana latastei* Boulenger, 1879), čovječja ribica (*Proteus anguinus* Laurenti, 1768), crni daždevnjak (*Salamandra atra* (Laurenti, 1768)), veliki vodenjak (*Triturus carnifex* (Laurenti, 1768)) i veliki dunavski vodenjak (*Triturus dobrogicus* (Kiritzescu, 1903)).

Istraživanjem vodozemaca u Međimurskoj županiji provedenim 2010. godine, zabilježeno je 9 vrsta vodozemaca (Jovanović i Šafarek, 2010), dok je pretpostavljeni broj vrsta veći, što će zasigurno potvrditi buduća istraživanja. Prema Janev Hutinec i sur. (2013), zabilježene i pretpostavljene vrste vodozemaca u Međimurju su: pjegavi daždevnjak (*Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758)), mali vodenjak (*Lissotriton vulgaris* (Linnaeus, 1758)), crveni mukač (*Bombina bombina* (Linnaeus, 1761)), žuti mukač (*Bombina variegata* (Linnaeus, 1758)), češnjača (*Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768)), smeđa krastača (*Bufo bufo* (Linnaeus, 1758)), gatalinka (*Hyla arborea* (Linnaeus, 1758)), močvarna smeđa žaba (*Rana arvalis* Nilsson, 1842), šumska smeđa žaba (*Rana dalmatina* Fitzinger in Bonaparte, 1838), livadna smeđa žaba (*Rana temporaria* Linnaeus, 1758) i jestiva zelena žaba (*Pelophylax kl. esculentus* (Linnaeus, 1758)) (Janev Hutinec i sur., 2013).

Ugroženost vodozemaca

Vodozemci se smatraju najugroženijom skupinom kralježnjaka na Zemlji (Jelić i sur., 2012). Nestajanje populacija vodozemaca ("amphibian decline") pojava je uočena diljem svijeta u posljednjih 30-ak godina (Džapo i sur., 2013). Međunarodna organizacija za zaštitu prirode (IUCN) procjenjuje da najmanje trećini danas poznatih vrsta vodozemaca prijeti izumiranje (Janev Hutinec i sur., 2013). Prema Crvenoj knjizi vodozemaca i gmazova Hrvatske, u kategoriju gotovo ugroženih vrsta (NT) ubraja se crveni mukač, u kategoriju najmanje zabrinjavajućih vrsta (LC) ubraja se žuti mukač, a u kategoriju vrsta s nedovoljno podataka (DD) ubraja se češnjača (Jelić i sur., 2012). Najčešći razlozi nestanka i smanjenja populacija vodozemaca jesu (Janev Hutinec, 2009):

- ❖ promjena, uništavanje i fragmentacija staništa (krčenje šuma, isušivanje i kanaliziranje vodotoka, onečišćenje voda, izgradnja prometnica, zatrpavanje močvara i lokvi, zarastanje travnjaka)
- ❖ unošenje stranih invazivnih vrsta u njihova staništa
- ❖ stradavanje na prometnicama
- ❖ kemijske supstancije (pesticidi, umjetna gnojiva)
- ❖ izravno stradavanje zbog čovjeka (ilegalni lov i skupljanje za terarije, ubijanje kao posljedica straha)
- ❖ globalne klimatske promjene (promjene temperature i vlage, povećana razina UV-B zračenja, kisele kiše)

Glavni je uzrok ugroženosti vodozemaca promjena staništa, bilo da je riječ o njihovom cjepljanju prometnicama ili o uništavanju i potpunom nestajanju staništa pogodnih za život pojedinih vrsta. Česta su masovna stradavanja vodozemaca na prometnicama za proljetnih i/ili jesenskih migracija. Mnoge vrste ovisne su točno o određenim mrijestilištima i u proljeće životinje sa šireg područja migriraju prema njima. Ako na tom putu naiđu na veće prometnice, može doći do masovnog stradavanja spolno zrelog dijela populacije, što može dugoročno negativno utjecati na veličinu

cjelokupne populacije. To u Hrvatskoj posebno vrijedi za smeđu krastaču (*Bufo bufo*). Migracija je krastača masovna, događa se u rano proljeće (uglavnom u ožujku), a traje desetak dana (Janev Hutinec, 2008). Također, krastače se mriješte samo u većim i trajnim vodama pa je put koji prevaljuju često dug i do nekoliko kilometara. Drugi je razlog sporije kretanje od ostalih vrsta žaba. Krastače se najčešće kreću hodanjem, pri čemu često zastajkuju i dugo borave na prometnici pa je vjerojatnost da ih automobili pregaze vrlo velika (Treer, 2009). Mužjaci smeđih krastača najčešće već na kopnu hvataju ženke ispod pazuha i do mjesta za razmnožavanje dolaze na ženkinim leđima. Takav položaj mužjaka i ženke naziva se amplexus. Područja na kojima dolazi do masovnog stradavanja vodozemaca u prometu nazivaju se „crnim točkama“ (Hyla, 2013).

OBRAZLOŽENJE TEME

Na županijskoj cesti Črečan-Macinec, nedaleko od naše škole, već se godinama uočava masovni prelazak žaba preko prometnice tijekom njihove proljetne migracije iz šume u kanal Trnavu. Primijetivši mnoštvo crnih mrlja na prometnici (Slika 1.a), shvatile smo da veliki broj žaba na samom kraju svog puta stradava pod kotačima automobila (Slika 1.b).



a) „Crna točka“; b) Zgažena žaba na cesti

Kako bi pobliže upoznale i istražile problem koji smo uočile, u proljeće 2013. godine, u sklopu prirodoslovne grupe, odlučile smo se aktivno uključiti u spašavanje i zaštitu žaba na tom području. Stoga su ciljevi našeg rada:

- utvrditi učinkovitost metode postavljanja zaštitne ograde na smanjenje smrtnosti vodozemaca na prometnici Črečan-Macinec za vrijeme proljetnih migracija prema mrijestilištima

- utvrditi karakteristike populacija vodozemaca koje sudjeluju u migracijama na tom području (vrstu, spol, brojnost jedinki, razdoblje migracije ovisno o vrsti, smrtnost, ovisnost migracije o vremenskim uvjetima, utjecaj gustoće prometa na smrtnost jedinki).

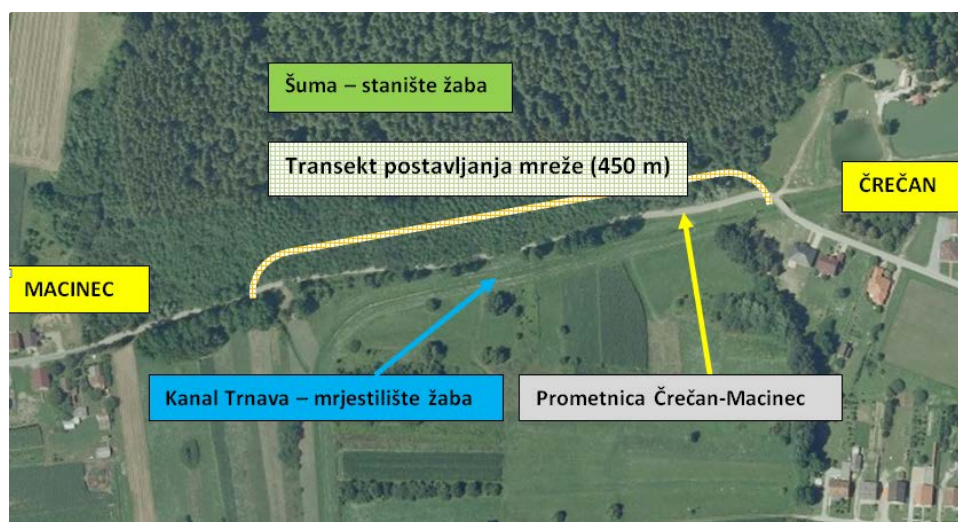
Pretpostavljamo da će postavljanjem zaštitne ograde veliki broj vodozemaca biti zaštićen od stradavanja na prometnici, da će u populaciji vodozemaca dominirati nekoliko vrsta žaba te da će intenzitet migracije biti najveći po vlažnom vremenu.

Ovim bismo radom željele doprinijeti boljem poznavanju i zaštiti ugroženih populacija vodozemaca kao važnog elementa bioraznolikosti Međimurja, ali i Hrvatske.

MATERIJAL I METODE RADA

Područje istraživanja

Područje istraživanja nalazi se u zapadnom dijelu Međimurske županije, na prijelazu iz Donjeg, nizinskog u Gornji, brežuljkasti dio Međimurja. Obuhvaća županijsku prometnicu između naselja Črečan i Macinec, koja su sastavni dio Općine Nedelišće. Dužina istraživanog dijela prometnice iznosi 450 metara (Slika 2). Sjeverno od prometnice nalazi se kanal za odvodnju oborinskih voda, koji presušuje u sušnom dijelu godine. Na kanal se prema sjeveru nastavlja šuma, dok se s južne strane prometnice nalazi kanal Trnava (Slika 3). Trnava izvire na području Gornjeg Međimurja, na 300 m nadmorske visine. Dužina cijele rijeke iznosi 46,9 kilometara i najveći je dio njenog toka reguliran. Najveća je desna pritoka rijeke Mure te se u nju ulijeva nedaleko od naselja Goričan, na istoku Međimurske županije. Prema kategorizaciji voda, ubraja se u III. kategoriju vodotoka. Istočno od šume, sa sjeverne strane prometnice, smješten je ribnjak Črečan, namijenjen lokalnom sportskom ribolovu.



Slika 2. Pogled iz zraka na istraživano područje (APPRRR, 2013)



Slika 3. Područje provedbe projekta – šuma, prometnica i kanal Trnava s južne strane prometnice

Metode rada na terenu

Terenska istraživanja provedena su u proljeće (veljača – travanj) 2013. i 2014. godine. Osnovna je metoda rada postavljanje lovnih posuda i ograde uz rub prometnice (Janev Hutinec, 2008) u vrijeme trajanja najintenzivnije migracije vodozemaca (ožujak – travanj). Duž sjeverne strane prometnice Črečan-Macinec, sa strane šume, postavljena je zaštitna ograda u dužini od 450 m (Slika 4.a) i uz nju 6 lovnih posuda ukopanih u zemlju, u razmaku od 50 m (Slika 4.b). Ograda priječi životinjama slobodno kretanje i usmjerava ih prema lovnim posudama. Za potrebe su istraživanja na početnom i završnom dijelu ograde očišćena dva propusta za vodu, koja prolaze ispod prometnice i spajaju odvodni kanal i kanal Trnavu te omogućuju vodozemcima siguran prolazak do mjesta mriješćenja. Također, u suradnji sa Županijskom upravom za ceste, na početnom i završnom dijelu prometnice postavljena su dva prometna znaka upozorenja „Žabe na cesti“ (Slika 4.c). Lovne posude svakodnevno su pregledavane ujutro i navečer, a uhvaćene jedinke prenesene preko ceste u kanal Trnavu. Osim područja uz ogradu, tijekom svakog izlaska na teren pregledavana je i prometnica, a u slučaju pronalaska živih ili mrtvih vodozemaca, zabilježen je njihov broj te su bili sklonjeni s prometnice. Tijekom svakog izlaska na teren, bilježeni su osnovni podaci za praćenje migracija vodozemaca (vrijeme i datum, broj prenesenih jedinki, broj stradalih jedinki, vrsta, spol (ako je bilo moguće odrediti), broj automobila u 20 minuta, vremenski uvjeti (kiša/bez kiše), temperatura zraka) te su fotografirane jedinke i stanište. Nakon završetka migracije (travanj) ograda je uklonjena.



Slika 4. a) Zaštitna ograda za vodozemce; b) Lovna posuda uz ogradu; c) Prometni znak „Žabe na cesti“

Metode prikupljanja i obrade podataka

Svakoj ulovljenoj jedinki određena je vrsta i spol (ako je bilo moguće) pomoću ključeva za određivanje vodozemaca i gmazova (Janev Hutinec i Karaica, 2010; Arnold i sur., 2004). Tijekom svakog izlaska na teren, zabilježeni su osnovni podatci za praćenje migracije vodozemaca. Podatci su obrađeni tablično i grafički, po određenim stavkama (vrijeme i datum, broj prenesenih jedinki, broj stradalih jedinki, vrsta, spol, broj automobila u 20 minuta, vremenski uvjeti (kiša/bez kiše), temperatura zraka) te je ispitana ovisnost migracije o određenim parametrima (npr. ovisnost migracije o kiši). Također, rezultati dobiveni tijekom protekle dvije godine uspoređeni su međusobno kao i s rezultatima dobivenim na crnim točkama u Selnici u Međimurskoj županiji i u okolini Koprivnice u Koprivničko-križevačkoj županiji.

REZULTATI

Brojnost jedinki po vrstama i smrtnost 2013. i 2014. godine

Tijekom 36 dana provođenja akcije spašavanja vodozemaca u 2013. godini (od 09. ožujka do 13. travnja 2013.) zabilježeno je 5 vrsta vodozemaca, od čega četiri vrste žaba – smeđa krastača (*B. bufo*), šumska smeđa žaba (*R. dalmatina*), zelena žaba (*Pelophylax* sp.), gatalinka (*H. arborea*) te mali vodenjak (*L. vulgaris*) (Slika 5, a - e).



Slika 5. Zabilježene vrste vodozemaca na istraživanoj lokaciji: a) Smeđa krastača (*Bufo bufo*) u amplexusu; b) Šumska smeđa žaba (*Rana dalmatina*); c) Zelena žaba (*Pelophylax* sp.); d) Gatalinka (*Hyla arborea*); e) Mali vodenjak (*Lissotriton vulgaris*)

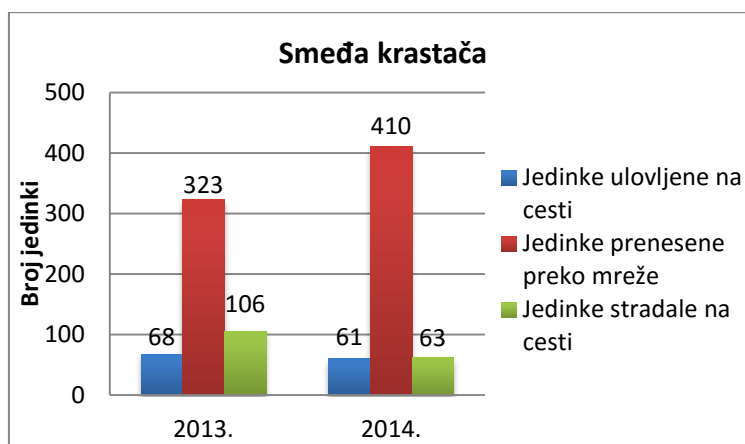


Od ukupno 524 jedinke vodozemaca koje su zabilježene u migraciji 2013. godine, spašeno je 412 jedinki, pri čemu je najbrojnija vrsta bila smeđa krastača (391 jedinka ili 95%, slika 6), a zatim slijedi šumska smeđa žaba (15 jedinki ili 3,7%, slika 7), zelena žaba (tri jedinke ili 0,7%, slika 8), gatalinka (dvije jedinke ili 0,4%, slika 9) i mali vodenjak (jedna jedinka ili 0,2%, slika 10).

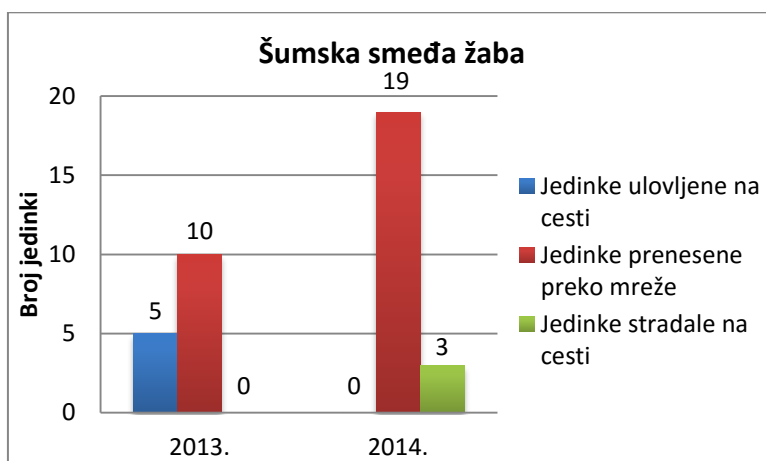
Tijekom 36 dana provođenja akcije spašavanja vodozemaca u 2014. godini (od 22. veljače do 29. ožujka 2014.) zabilježene su četiri vrste vodozemaca, od kojih tri vrste žaba – smeđa krastača, šumska smeđa žaba i zelena žaba te mali vodenjak.

Od ukupno 558 jedinki vodozemaca koje su zabilježene u migraciji 2014. godine, spašene su 492 jedinke, pri čemu je najbrojnija vrsta bila smeđa krastača (471 jedinka ili 96%, slika 6), a zatim slijedi šumska smeđa žaba (19 jedinki ili 3,8%, slika 7), zelena žaba (jedna jedinka ili 0,2%, slika 8) i mali vodenjak (jedna jedinka ili 0,2%, slika 10). Za razliku od 2013. godine, 2014. godine nalaz gatalinke nije potvrđen (Slika 9).

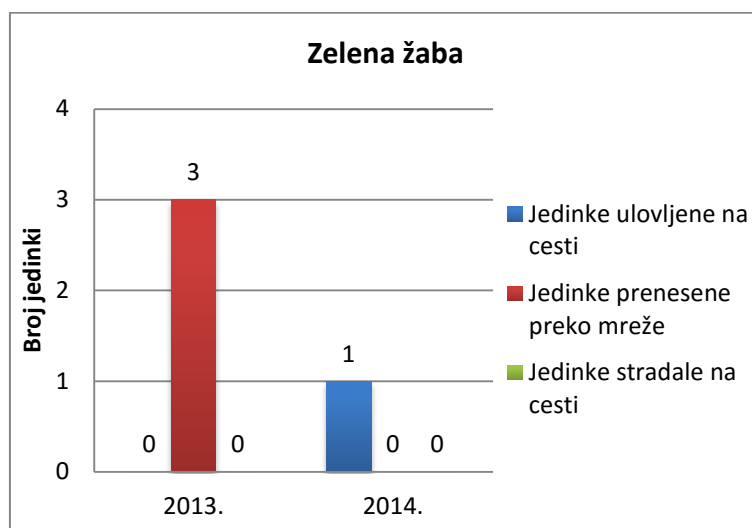
Tijekom obje godine zabilježeno je najveće stradavanje jedinki smeđe krastače (Slika 6). Od ukupnog broja smeđih krastača koje su sudjelovale u migraciji, veći je broj jedinki stradao 2013. godine (106 jedinki ili 21%) u odnosu na 2014. godinu (63 jedinke ili 12%), što je vidljivo na slici 6. Godine 2013. zabilježeno je najmanje stradavanje šumske smeđe žabe, zelene žabe i malog vodenjaka (niti jedna jedinka, slika 7, 8 i 10) te gatalinke (dvije jedinke, slika 9). Tijekom 2014. godine zabilježeno je najmanje stradavanje zelene žabe i malog vodenjaka (niti jedna jedinka, slika 8 i 10) i šumske smeđe žabe (tri jedinke, slika 7).



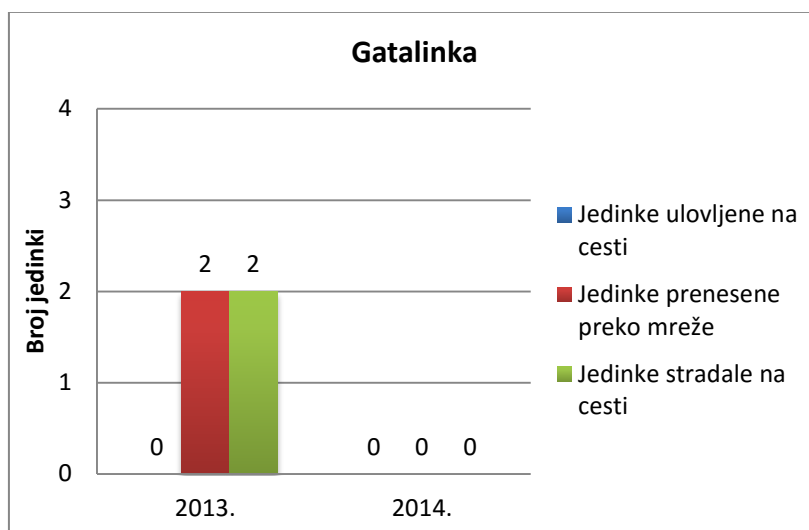
Slika 6. Prikaz brojnosti smeđe krastače tijekom 2013. i 2014. godine



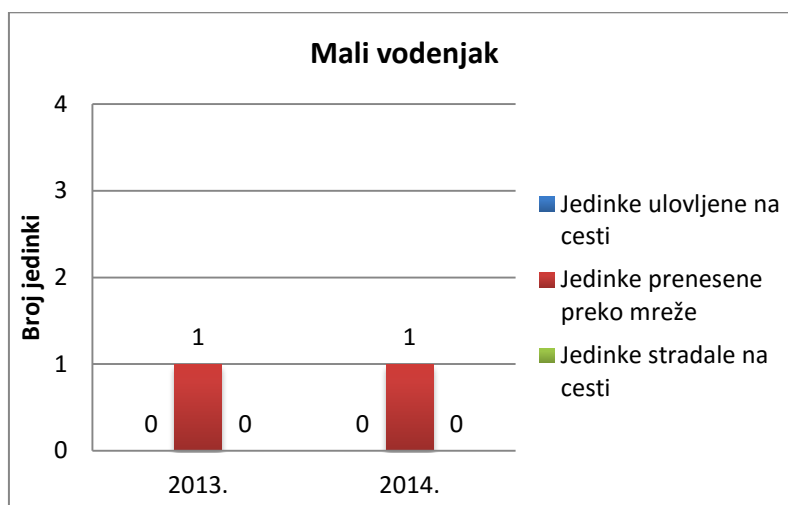
Slika 7. Prikaz brojnosti šumske smeđe žabe tijekom 2013. i 2014. godine



Slika 8. Prikaz brojnosti zelene žabe tijekom 2013. i 2014. godine



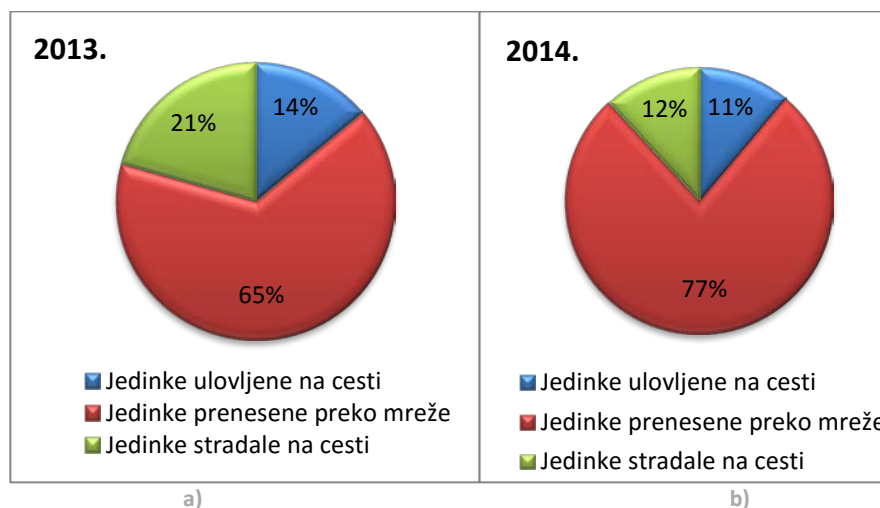
Slika 9. Prikaz brojnosti gatalinke tijekom 2013. i 2014. godine.



Slika 10. Prikaz brojnosti malog vodenjaka tijekom 2013. i 2014. godine

Od ukupnog broja jedinki zabilježenih 2013. godine, najveći broj jedinki (65%) pronađen je uz zaštitnu ogradu sa strane šume i prenesen preko ograde do vode, 21% jedinki stradalo je na cesti, dok je najmanje jedinki (14%) pronađeno na cesti i preneseno u vodu (Slika 11.a).

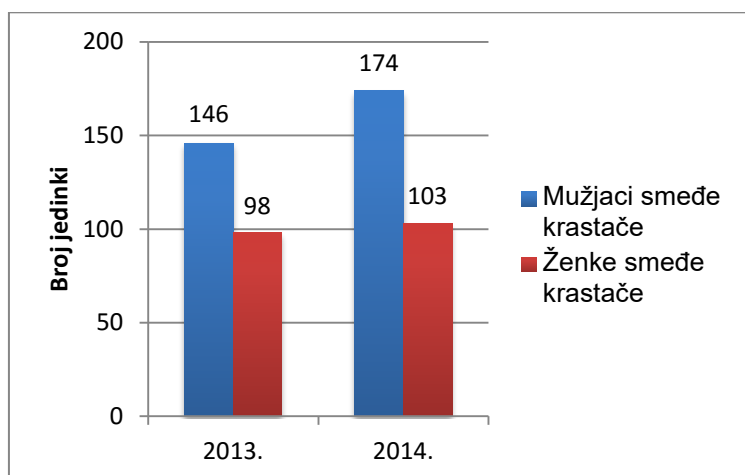
Od ukupnog broja jedinki zabilježenih 2014. godine, najveći broj jedinki (77%) pronađen je uz zaštitnu ogradu sa strane šume i prenesen preko ograde do vode, 12% jedinki stradalo je na cesti, dok je najmanje jedinki (11%) pronađeno na cesti i preneseno u vodu (Slika 11.b).



Slika 11. Odnos udjela jedinki ulovljenih na cesti, prenesenih preko mreže i stradalih na cesti tijekom 2013. godine (a) i 2014. godine (b)

Odnos spolova smeđe krastače 2013. i 2014. godine

Od ukupno 244 jedinke smeđe krastače uzete u obzir kod analize odnosa spolova tijekom 2013. godine, bilo je 146 mužjaka i 98 ženki (Slika 12). Omjer spolova iznosio je 1,49 : 1 (mužjaci : ženke). Tijekom 2014. godine također su dominirali mužjaci smeđe krastače pri čemu su, od ukupno 277 jedinki, mužjaci činili 174 jedinke, a ženke 103 jedinke (Slika 12). Odnos spolova iznosio je 1,69 : 1 (mužjaci : ženke). Jedinke kojima zbog teškoća u određivanju spol nije određen, nisu uzete u obzir kod analize odnosa spolova.



Slika 12. Brojnost mužjaka i ženki smeđe krastače tijekom 2013. i 2014. godine

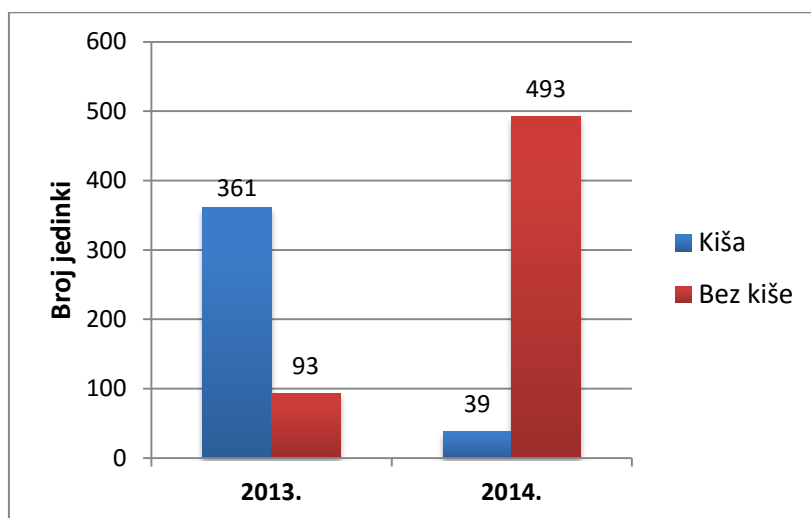
Tijekom 2014. godine u 40% slučajeva smeđe krastače pronađene su u amplexusu (Slika 5.a). U nekoliko slučajeva pronađena su dva mužjaka u borbi za jednu ženku (Slika 13.a i b).



Slika 13. a i b. Mužjaci smeđe krastače u borbi za ženku

Ovisnost migracije o vremenskim uvjetima

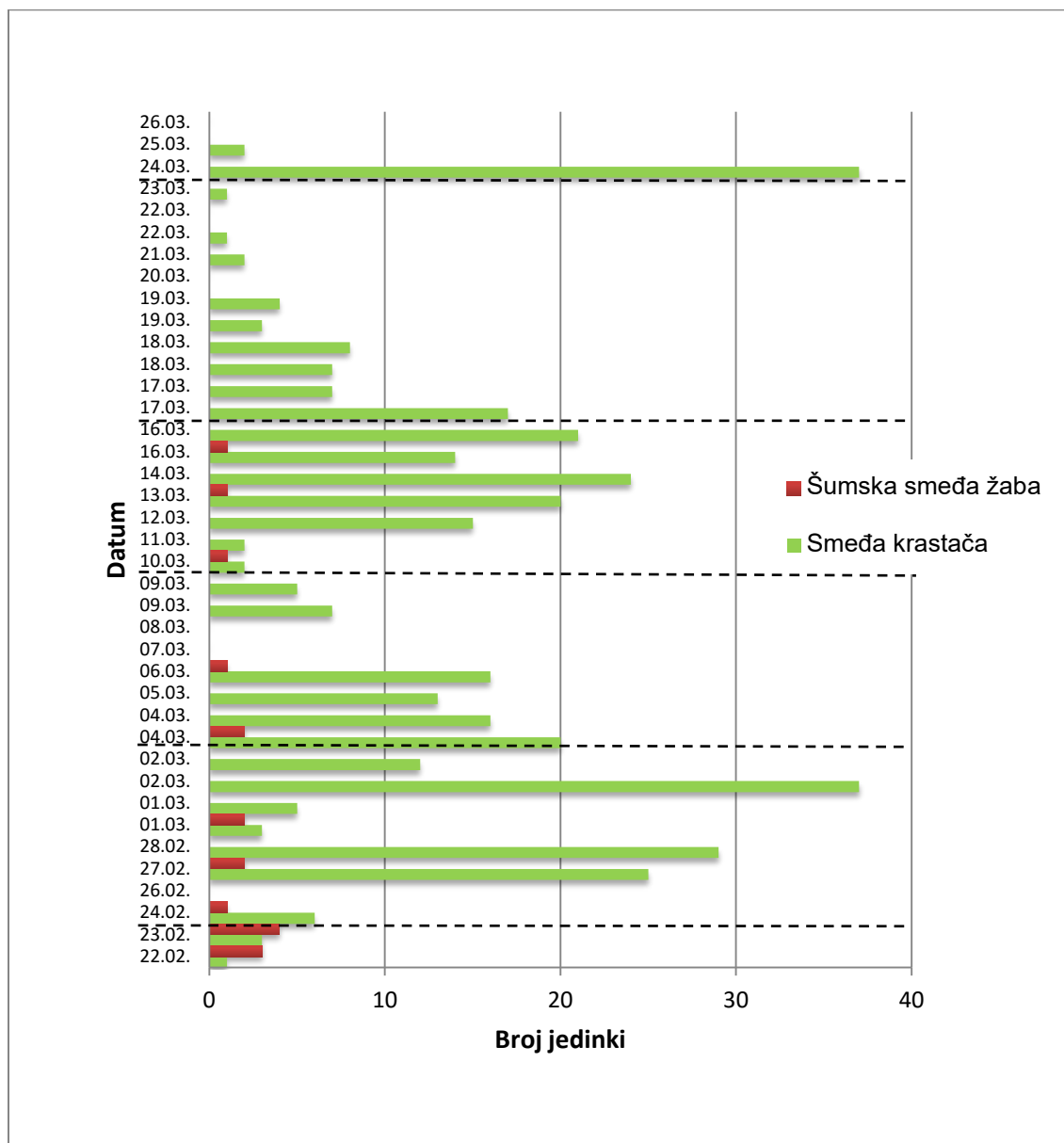
Tijekom 2013. godine u migraciji po kišnom vremenu sudjelovala je 361 jedinka od ukupno 454 jedinke (Slika 14), što znači da je 80% zabilježene populacije migriralo po kišnom vremenu. Tijekom 2014. godine po kišnom vremenu u migraciji je sudjelovalo 39 jedinki od ukupno 493 jedinke (Slika 15), što čini 8% populacije.



Slika 14. Ovisnost migracije vodozemaca o vremenskim uvjetima tijekom 2013. i 2014. godine

Period migracije šumske smeđe žabe i smeđe krastače 2014. godine

Najveći intenzitet migracije šumske smeđe žabe zabilježen je krajem veljače, prije migracije smeđe krastače. Intenzitet migracije smeđe krastače veliki je tijekom cijelog mjeseca ožujka (Slika 15). Prilikom analize intenziteta migracije u obzir su uzete samo jedinke vodozemaca pronađene uz sjevernu stranu ograde, kako bi se isključila mogućnost bilježenja jedinki koje se vraćaju s mriješćenja.



Slika 16. Usporedba razdoblja migracije šumske smeđe žabe i smeđe krastače tijekom 2014. godine (crtkane linije označavaju razdoblje između dva tjedna, a za pojedine dane navedeni su rezultati jutarnjeg i večernjeg praćenja migracije kao dva zasebna rezultata)

Utjecaj gustoće prometa na smrtnost jedinki

Tijekom istraživanog razdoblja u 2013. godini na prometnici je zabilježeno 6 automobila u 20 minuta pri čemu je smrtnost smeđih krastača bila 21% (Slika 6). Godine 2014. zabilježeno je 5 automobila u 20 minuta, a smrtnost smeđih krastača iznosila je 12% (Slika 6). Od ukupnog broja stradalih jedinki smeđe krastače 2014. godine, mužjaci su činili većinu stradale populacije (73%), a ženke manji dio (27%) stradale populacije (3 : 1, mužjaci : ženke).



RASPRAVA

Na istraživanom području zabilježeno je 5 vrsta vodozemaca: smeđa krastača (*B. bufo*), šumska smeđa žaba (*R. dalmatina*), zelena žaba (*Pelophylax sp.*), gatalinka (*H. arborea*) te mali vodenjak (*L. vulgaris*). Pronalazak navedenih vrsta podudara se sa vrstama zabilježenim tijekom dosadašnjih istraživanja na području Međimurja (Jovanović i Šafarek, 2010) i upućuje na veliku raznolikost vodozemaca s obzirom na malo područje istraživanja.

Najbrojnija vrsta žabe tijekom istraživanog razdoblja u obje godine bila je smeđa krastača (95% svih spašenih jedinki) s najvećim intenzitetom migracije u ožujku, dok je na drugom mjestu bila šumska smeđa žaba (3,6% spašenih jedinki) s najvećim intenzitetom migracije u veljači. To je u skladu s literaturom i rezultat je životnog ciklusa navedenih vrsta žaba. Prema Janev Hutinec (2008) migracija smeđih krastača prema mrijestilištima najmasovnija je i događa se u rano proljeće (uglavnom u ožujku), dok kod smeđih žaba parenje obično nastupa u veljači. Veći broj zabilježenih i spašenih smeđih žaba 2014. godine s obzirom na 2013. godinu, mogao bi biti posljedica ranijeg postavljanja ograde za žabe 2014. godine (22. veljače 2014.) u odnosu na 2013. godinu (09. ožujka 2014.). Ranijim postavljanjem zaštitne ograde spašavanjem je obuhvaćen dulji period migracije šumske smeđe žabe. Zelena žaba i gatalinka zabilježene su u malom broju iz razloga što njihovo razdoblje parenja nastupa kasnije u proljeće (travanj, svibanj, lipanj). Tijekom 2014. godine u migraciji je sudjelovao veći broj vodozemaca, što bi moglo biti posljedica povećanja populacije zbog smanjenog stradavanja vodozemaca tijekom 2013. godine.

Unatoč uloženoj trudu te mjerama spašavanja i zaštite, došlo je do stradavanja jedinki na prometnici. Pretpostavlja se da su jedinke koje su stradale, na prometnicu došle izvan ograđenog područja ili provlačenjem ispod ograde, a dio je jedinki mogao stradati i prilikom vraćanja s mjesta parenja prema šumi, budući da s južne strane prometnice nije bila postavljena zaštitna ograda. Nakon završetka parenja, koje kod smeđih krastača traje nekoliko dana, odrasle jedinke napuštaju vodu i odlaze natrag u šumska staništa (Janev Hutinec i Karaica, 2010). Kako bi smrtnost bila još manja, bilo bi potrebno postaviti zaštitnu ogradu s obje strane prometnice, da bi se zaštitile od stradavanja i one jedinke koje se vraćaju s mjesta parenja.

Zabilježena najveća smrtnost smeđih krastača tijekom obje istraživane godine u skladu je s rezultatima dosadašnjih istraživanja (Janev Hutinec, 2008; Santos i sur., 2007; Treer, 2009). Santos i sur. (2007) navode da je smeđa krastača vodozemac koji najčešće strada na prometnicama u mnogim zemljama Europe. Posljedica je to masovne migracije smeđih krastača prema mrijestilištima upravo tijekom ožujka, kao i sporijeg kretanja krastača od ostalih vrsta žaba. Krastače se najčešće kreću hodanjem, pri čemu često zastajkuju i dugo borave na prometnici pa je vjerojatnost da ih automobil pregazi vrlo velika (Treer, 2009). Također, u potrazi za velikim vodenim površinama u kojima se mrijeste, krastače prevaljuju velike udaljenosti (i do tri km) (Janev Hutinec i sur. 2013).

S obzirom na odnos spolova smeđe krastače, ako uzmemo u obzir samo one jedinke kojima je određen spol, tijekom obje istraživane godine dominirali su mužjaci smeđe krastače, što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima. Treer (2009) je tijekom istraživanja smeđih krastača u parku Maksimir zabilježio puno veću brojnost mužjaka na mjestu razmnožavanja nego ženki. Dobiveni omjer stradavanja mužjaka i ženki smeđih krastača u ovom istraživanju, koji pokazuje da na jednu stradalu ženku dolaze tri stradala mužjaka, poklapa se s istraživanjem provedenim u okolini Koprivnice (Samardžić, 2003). Zbog poteškoća u određivanju spola, dio jedinki smeđih krastača ostao je nepoznatog spola.



U 40% slučajeva tijekom 2014. godine, mužjaci i ženke pronađeni su kako do mjesta za parenje dolaze u amplexusu, što je također u skladu s literaturom. Treer (2009) navodi kako mužjaci smeđe krastače najčešće do mjesta razmnožavanja dolaze na ženkinim leđima.

U nekoliko slučajeva pronađena su dva mužjaka u borbi za jednu ženku. Slično je zabilježio Treer (2009) u parku Maksimir, koji navodi da mužjake na leđima napadaju drugi mužjaci nastojeći zauzeti njihovo mjesto pa se na jednoj ženki može naći i više od deset mužjaka u međusobnoj borbi. Ako se borbe događaju pod vodom, ponekad se ženka i utopi jer ne uspijeva otići do površine po zrak.

Tijekom 2013. godine 80% zabilježene populacije migriralo je po kišnom vremenu, što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima koja govore da smeđa krastača bira proljetno vrijeme s visokom temperaturom i kišom za migraciju na mrijestilišta (Santos i sur., 2007). Tijekom 2014. godine, po kišnom vremenu u migraciji je sudjelovalo samo 8% populacije. Razlog tome najvjerojatnije je mali broj kišnih dana u proljeće 2014. godine, odnosno u periodu migracije žaba.

Istraživanjem crne točke na području općine Selnica u Međimurskoj županiji (Međimurska priroda, 2014) zabilježena je prosječna gustoća prometa od 17 automobila u 20 minuta, pri čemu je smrtnost jedinki smeđe krastače iznosila 38,7%. Sličnim istraživanjem provedenim u Koprivničko-križevačkoj županiji (Samardžić, 2003) dobiven je podatak od 8,7% stradalih jedinki pri gustoći prometa od 2 automobila u 20 minuta. Uspoređujući smrtnost jedinki s obzirom na gustoću prometa, može se zaključiti kako veća gustoća prometa uzrokuje veću smrtnost jedinki. Takvi su rezultati u skladu s rezultatima našeg istraživanja.

Mjerenjima je utvrđeno da već promet od 6 do 13 automobila u 20 minuta uzrokuje stradavanje oko 50% krastača koje prelaze prometnicu radi mriješćenja (Samardžić, 2003 prema Reh, 1990). Iz toga se može zaključiti kako je smanjeni postotak smrtnosti u našem istraživanju (21% populacije 2013. godine i 12% populacije 2014. godine) posljedica postavljanja zaštitne ograde za vodozemce. Postavljanje zaštitne ograde za vodozemce učinkoviti je način zaštite vodozemaca od stradavanja na prometnicama.

ZAKLJUČCI

Na istraživanom području zabilježeno je 5 vrsta vodozemaca: smeđa krastača (*Bufo bufo*), šumska smeđa žaba (*Rana dalmatina*), zelena žaba (*Pelophylax* sp.), gatalinka (*Hyla arborea*) te mali vodenjak (*Lissotriton vulgaris*), što upućuje na veliku raznolikost vodozemaca s obzirom na malo područje istraživanja. Najbrojnija vrsta žabe bila je smeđa krastača (95% svih spašenih jedinki) što je rezultat životnog ciklusa ove vrste, kojeg karakterizira masovna migracija prema mrijestilištima tijekom ožujka.

Unatoč zaštitnoj ogradi, najveća smrtnost zabilježena je kod smeđe krastače iz razloga što je migracija krastača u ožujku masovna i što se krastače kreću sporo hodajući.

Od svih zabilježenih vrsta vodozemaca, prve na mrijest odlaze smeđe žabe i to već tijekom veljače.

Migracija je bila najveća po kišnom vremenu, čime je potvrđena naša pretpostavka.

U migraciji su dominirali mužjaci smeđih krastača. Metoda postavljanja zaštitne ograde pokazala se učinkovitom metodom za zaštitu vodozemaca od stradavanja na prometnicama, jer je najveći dio populacije koja je migrirala bio uspješno prenesen do vode (79% 2013. i 88% 2014.), čime je potvrđena naša pretpostavka. Kako bi se populacija vodozemaca u potpunosti zaštitila od stradavanja, potrebno bi bilo zaštitnu ogradu postaviti s obje strane prometnice. Ovaj rad važan je korak k boljem poznavanju i zaštiti ugroženih populacija vodozemaca u Međimurju, Hrvatskoj i šire.



LITERATURA

- Hrvatsko herpetološko društvo – Hyla. 2013. Postanite volonter - prijavljujte crne točke, Hyla. URL: <http://www.hhdhyla.hr/podrzite-nas/postanite-volonter/postanite-volonter-prijavljujte-crne-tocke>, pristupljeno 10.3.2015.
- Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju. 2013. Arkod preglednik, APPRRR. URL: <http://preglednik.arkod.hr/ARKOD-Web/>, pristupljeno 28.4.2013.
- Arnold E. N., Burton J. A., Ovenden D. 2004. A field guide to the reptiles and amphibians of Britain and Europe. Collins, London.
- Džapo J., Tonšetić J., Zdražil L. 2013. Biologija 7, udžbenik biologije za sedmi razred. Profil International, Zagreb.
- Janev Hutinec B., Karaica D. 2010. Vodozemci i gmazovi u Parku prirode Medvednica. Javna ustanova „Park prirode Medvednica“, Zagreb.
- Janev Hutinec B. 2009. Vodozemci i gmazovi. Javna ustanova za upravljanje zaštićenim područjima Sisačko-moslavačke županije, Popovača.
- Janev Hutinec B. 2008. Vodozemci i gmazovi – priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- Janev Hutinec B., Šafarek G., Jovanović O., Janković S. 2013. Žaba, kača, kušcar. Međimurska priroda – Javna ustanova za zaštitu prirode, Križovec.
- Jelić D., Kuljerić M., Koren T., Treer D., Šalamon D., Lončar M., Podnar Lešić M., Janev Hutinec B., Bogdanović T., Mekinić S., Jelić K. 2012. Crvena knjiga vodozemaca i gmazova Hrvatske. Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- Međimurska priroda - Javna ustanova za zaštitu prirode. 2014. Zaštita vodozemaca od stradavanja na prometnicama na području općine Selnica – rezultati monitoringa. Međimurska priroda - Javna ustanova za zaštitu prirode, Križovec.
- Narodne novine. 2013. Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama (NN 144/13). URL: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_12_144_3086.html, pristupljeno 5.3.2015.
- Samardžić, M. 2003. Stradavanje vodozemaca na prometnicama u okolici Koprivnice. Podravski zbornik 2003, 269-276.
- Santos X., Llorente G. A., Montori A., Carretero M. A., Franch M., Garriga N. i Richter-Boix A. 2007. Evaluating factors affecting amphibian mortality on roads: the case of the Common Toad *Bufo bufo*, near a breeding place. Animal biodiversity and conservation 30 (1): 97 – 103.
- Šafarek G. i Jovanović O. 2010. Rezultati inventarizacije herpetofaune te popisivanja njihovih važnih staništa na području regionalnog parka Mura – Drava uz rijeku Muru u Međimurskoj županiji. Međimurska priroda - Javna ustanova za zaštitu prirode, Križovec.
- Šemnički P., Curman M., Štokan M. 2013. Puti i stezice naše Strahinjšćice. Javna ustanova za upravljanje zaštićenim prirodnim vrijednostima na području Krapinsko-zagorske županije, Krapina.
- Treer D. 2009. Tajni život krastača. Priroda, God.99 (2009), 5=979, 12-23.

KOJU VODU PITI-VODOVODNU, FLAŠIRANU, FILTRIRANU ILI "OŽIVLJENU"?

Karla Hrala, 1. razred

II. gimnazija, Zagreb

Mentor: Bojana Davda Sirovina

SAŽETAK

Cilj istraživanja je uz pomoć Allium testa utvrditi razlike u kvaliteti vode iz plastične i staklene ambalaže u odnosu na vodovodnu vodu te utvrditi učinkovitost posuda za filtraciju vode i njeno "oživljavanje", kao i navodno loš utjecaj višekratno korištenih plastičnih boca koje su bile izložene temperaturama iznad 35°C. Istraživanjem je određene broj korjenčića svake lukovice, izmjerena duljina korjenčića, duljina nadzemnog dijela izdanka, određen mitotski indeks te provedena osjetilna analiza različitih vrsta voda. Sakupljeni podaci statistički su obrađeni te je izvršena usporedba rezultata dobivenih za različite vrste vode u kojima su lukovice klijale tijekom 10 dana. Kod filtrirane vodovodne vode iz Brita filtera i stavljene u Flašku zabilježeni su najlošiji rezultati u broju i duljini korjenčića lukovice dok su kod ostalih voda zabilježene vrijednosti bez statistički značajnih odstupanja u broju i duljini korjenčića lukovice. Najlošiji rezultat u duljini izdanka zabilježen je kod Kale iz plastične ambalaže, dok je najveća duljina nadzemnog izdanka zabilježena kod filtrirane vode iz Flaške. Nisu zabilježena značajnija odstupanja u izgledu i okusu različitih voda, no nešto lošiji miris u odnosu na ostale zabilježen je kod vode filtrirane u Brita filteru. Utvrđeno je kako razlike u kvaliteti vode iz plastične i staklene boce u odnosu na vodovodnu postoje, te se najlošijom pokazala Kala iz plastične boce u kojoj su lukovice najlošije rasle odnosno zabilježen je najmanji broj korjenčića, duljina korjenčića i mitotski indeks. Najlošije su rasle lukovice koje su se nalazile u filtriranoj vodi stavljenoj u Flašku iz čega možemo pretpostaviti da ovakva kombinacija nije preporučljiva za primjenu.

Glavne riječi: *Allium test, kvaliteta vode, ambalaža*

UVOD

Zemlju vrlo često nazivamo plavim planetom jer je više od 70% njezine površine prekriveno vodom. Preko 97% vode čini slana voda mora i oceana, 2% vode se nalazi „zarobljeno“ u snijegu i ledu, a manje od 1% vode je slatka voda koja nam ostaje za potrebe svakodnevnoga života. Molekula vode sastoji se od jednog atoma kisika i dva atoma vodika. Mala i jednostavna, no osobita zbog svoje strukture na kojoj počivaju neobična svojstva. Jedinstvenom ju čine njezina posebna svojstva kao i način na koji se mijenja zagrijavanjem i hlađenjem. Većina se tvari širi pri zagrijavanju i steže pri hlađenju, dok voda smrzavanjem povećava volumen i postaje lakša (Byatt i sur., 2002).

Tijela većine živih organizama sadrži oko 65% vode, a većina stanovnika mora građena je 80 % od vode, a neke, primjerice meduze, i do 95%. Neprestano se izlučuje iz tijela pa ju je potrebno stalno nadoknađivati. Voda se kod životinja i čovjeka gubi mokraćom, izmetom, disanjem i znojenjem, a izlučivanje vode metabolički je nužno, jer ono omogućuje organizmu da se oslobodi nekorisnih i štetnih tvari topljivih u vodi (Springer i Pavlek-Kozlina, 2009).

Kako bi se nadoknadio gubitak vode tijekom dana bitno je piti ravnomjerno tijekom cijelog dana i između obroka. Savjetuje se unos vode prije jela ili jedan sat poslije jela te je isto tako važno ne zaboraviti piti vodu između obroka, ali i jednu čašu vode ujutro i jednu čašu vode prije spavanja. Osim za piće voda se uvelike koristi za pripremu hrane, za pranje, te navodnjavanje poljodjelskoga tla. Voda kao dobro otapalo opskrbljuje biljke mineralnim tvarima i nužna je za fotosintezu, a u ljudskom organizmu kao glavni sastojak tjelesnih tekućina opskrbljuje sve organe hranjivim sastojcima i uklanja otpadne tvari iz organizma (Springer i Pavlek-Kozlina, 2009). Zadovoljavajući svoju biološku potrebu za unošenjem vode u tijelo, čovjek je kopao bunare i skupljao kišnicu te gradio vodovode. Naučio je koristiti snagu vode za proizvodnju hrane, a zatim i za industrijsku proizvodnju i proizvodnju



električne energije. Sve ljudske aktivnosti utječu na ekosustave voda te mogu ugroziti količinu i kakvoću pitke vode. Osim štetnih tvari iz industrije, vodu zagađuju nepročišćene otpadne vode iz kućanstava, prekomjerno korištenje otrova i gnojiva u poljoprivredi, betoniranje i asfaltiranje krajolika zbog izgradnje cesta, sječa šuma, kisele kiše te ljudski nemar prema prirodi (Carpenter i sur., 1998). Ključni je uvjet održivoga razvoja održavanje čistoće vode u prirodnim spremištima i vodotokovima. Sprječavanje zagađivanja voda najvažniji je dio zaštite okoliša te se provodi aerobna obradba otpada i ispitivanje kakvoće vode.

Procesi koji se odvijaju na svijetu doprinose smanjivanju rezervi pitke vode te se ne može zadovoljiti potražnja vode na određenom prostoru. Prema izvješću o vodnim zalihama koje je izradio UNESCO, a u koje je uključeno 188 zemalja svijeta, na prostoru Europe Hrvatska drži čvrstu treću poziciju iza Norveške i Islanda dok se u svijetu nalazi u prvih 30 zemalja.

U bezvodnom Mediteranu Hrvatska bi mogla u budućnosti preuzeti vrlo važnu stratešku ulogu kao snabdjevač najvažnijim resursom danas.

Voda kao najvažniji resurs na Zemlji bez kojega nema života oduvijek je pružala priliku za suradnju ili sukob. Niti današnji scenarij u svijetu nije drugačiji jer će porast stanovništva i razvoj tehnologije zahtijevati sve veću potrošnju vode. Zbog smanjenja obujma pitke vode na svijetu, velikog porasta stanovništva i vode kao najbitnijeg čimbenika života, može se očekivati da će se igra oko vode odvijati tiho, a porast stanovništva i razvoj tehnologije zahtijevat će sve veću potrošnju vode.

OBRAZLOŽENJE TEME

Pitka voda postaje glavni resurs u 21. stoljeću zbog porasta broja ljudi i promijenjenog standarda. Danas smo suočeni sa svakodnevnim usporedbama kako je pitka voda "nova nafta" te kako će se oko iste voditi borbe.

Prirodna voda, koja sadrži kalcijev hidrogenkarbonat, kalcijev klorid i kalcijev sulfat naziva se tvrda voda. Pitka voda, podzemna, bunarska i površinska, je bistra i potpuno prozirna voda, bez mirisa i boje, a radi dobra okusa treba sadržavati otopljeni kisik, ugljikov dioksid i topljive soli poput natrijevog klorida i natrijevog hidrogen karbonata (WHO, 2005). Sadrži li patogene bakterije, organske tvari, nitrate, nitrite i amonijak, soli željeza (koje omogućuju razvoj algi), manganove soli (daju vodi loš okus) ili druge štetne tvari, mora se prije uporabe pročititi oksidacijom kisikom iz zraka i dezinficirati klorom ili ozonom (Blažević i sur., 2006).

Voda za piće kao što su primjerice Bistra, Jana i ostale, su najčešće izvorske vode koje su pak samo pročišćene od mogućih nečistoća. Na žalost, sve većim korištenjem vode u plastičnim bocama stvara se nepotrební otpad i troše velike količine energije što postaje veliko opterećenje za okoliš. Navika kupovanja flaširane vode loša je u više kategorija. Financijski, takva je voda od 300 do dvije tisuće puta skuplja od obične vode iz slavine, godišnje se na svjetskoj razini popije 50 milijardi boca vode, ukupne vrijednosti od sto milijardi dolara. Potrebno je tri puta više vode da bi se proizvela jedna boca od količine potrebne da se ista napuni, a u tom procesu potroši se dvije tisuće puta više energije od one koja je potrebna za vodu iz slavine. Više od 80 % tih boca završi u okolišu, dio njih se uspije reciklirati, ali ogroman dio završi uz cestu ili po jarcima. Upravo plastične boce i vreće čine većinu smeća na plažama i u morima. Boce ispuštaju toksične kemikalije kada se konačno razgrade, a za taj proces potrebno je 450 godina.

Svakodnevno na ulicama, posebice tijekom ljetnih dana, susrećemo ljude s bočicama vode. Kao jedan od glavnih problema kad se raspravlja o kvaliteti vode u bocama, stručnjaci ističu ispravnost plastične



ambalaže u koju je voda pakirana. Budući da je voda u njima pohranjena često duži period i to često na visokim temperaturama (u skladištu tvornice, tijekom transporta, ponovo u skladištu dućana, u našim kućama), smatra se da je takva voda izložena kemikalijama kojih je vrlo malo ili ih uopće nema u javnom vodovodu. Često se ističe kako višekratno korištenje plastične ambalaže također može biti štetno po ljudsko zdravlje budući da neke plastične boce u vodu koju sadrže otpuštaju razne opasne tvari koje negativno utječu na ljudsko zdravlje, kao što je bisphenol A (BPA), spoj koji uzrokuje hormonalnu neravnotežu, negativno utječe na mozak i uzrokuje reproduktivnu disfunkciju kod odraslih osoba (Rubin, 2004).

Velik broj plastičnih bočica vode s kojima se svakodnevno susrećemo te navodi o štetnosti plastične ambalaže potaknule su nas istražiti postoji li zaista razlika u kvaliteti vodovodne i vode iz bočice, plastične ili staklene, kao i vode obrađene filtrima ili bocama koje joj navodno mijenjaju kvalitetu te je „oživljavaju“.

U cilju utvrđivanja kvalitete vode u našem okruženju Khanna i Sharma (2013) navode da je ispravnost vode za piće moguće utvrditi pomoću biološkog *Allium* testa. U ovom testu lučica reagira na kakvoću i kvalitetu vode. Ako je voda slabije kakvoće korjenčići lučice su slabog rasta ili rast izostane. *Allium* testom može se dokazati prisutnost štetnih tvari u vodi u koncentracijama koje su znatno niže od onih koje se mogu dokazati analitičkim metodama. Štetne tvari u vodi utječu na rast i razvoj živih stanica pa tako i na čovjeka. Ovim metafaznim testom dokazuje opća stanična toksičnost (citotoksičnost) i razina genotoksičnosti, a velika prednost testa je i to što je kratkotrajan (Khanna i Sharma, 2013).

Smatramo kako bi bilo korisno utvrditi postoje li značajne razlike u kvaliteti vodovodne vode koju mnogi kritiziraju i vode koju kupujemo u staklenim ili plastičnim bocama, vodovodne vode koja je filtrirana u posudama koje se u zadnje vrijeme sve više reklamiraju te vode koja je obrađena unutar boce koje je navodno »oživljava«. Ovo istraživanje moglo bi doprinjeti manjoj upotrebi plastičnih boca i smanjivanju količine otpada i utrošene energije.

Cilj istraživanja je uz pomoć *Allium* testa utvrditi razlike u kvaliteti vode iz plastične i staklene ambalaže u odnosu na vodovodnu vodu te utvrditi učinkovitost posuda za filtraciju vode i njeno „oživljavanje“, kao i navodno loš utjecaj višekratno korištenih plastičnih boca koje su bile izložene temperaturama iznad 35°C.

Pretpostavljamo da ćemo dokazati razlike u kvaliteti vode pohranjene u plastičnim i staklenim bocama u odnosu na vodovodnu vodu te utvrditi razlike u kvaliteti vode iz posuda za obradu vode i višekratno korištenih plastičnih boca izložene visokoj temperaturi.

Očekujemo da će osjetilna analiza pokazati ujednačenost u izgledu različitih vrsta voda koje smo koristili, te da će vodovodna voda biti najlošije ocijenjena okusom i mirisom, zbog njene kemijske obrade i cijevi kroz koje prolazi. Isto tako očekujemo da će najbolje biti ocijenjene vode iz staklenih i plastičnih ambalaža jer su ljudi navikli na njihov okus i miris, te ih sve češće konzumiraju.

MATERIJAL I METODE RADA

Materijal

Za svaki uzorak u obje kontrole korištene su lukovice crvenog luka (*Allium cepa* L.), veličine od 16-18 mm, teške 3-4 g, ne starije od 6 mjeseci i ne tretirane sredstvima protiv klijanja Fibras, 2008). U istraživanju su korištene vodovodna voda, voda Jana i Kala u plastičnoj i staklenoj ambalaži, posuda za filtraciju vode (Brita) i boca za „oživljavanje vode“ FLAŠKA (Flaška d.d. Slovenia).



Metode rada

Pokus je postavljen u dva ponavljanja. Lukovice crvenog luka jednake starosti kojima su skalpelom odstranjeni stari korjenčići uronjene su u deset različitih voda: vodovodna voda (kontrolna otopina), voda Jana iz plastične i staklene ambalaže, voda Kala iz plastične i staklene ambalaže, filtrirana vodovodna voda, vodovodna voda iz boce FLAŠKA, vodovodna voda iz više puta korištene plastične boce izložene temperaturi od 35-40 °C dva sata dnevno kroz 5 dana, voda iz jednom korištene, dva sata grijane plastične boce Jana na temperaturi od 35-40 °C, filtrirana vodovodna voda iz boce FLAŠKA.

Prebrojavanje korjenčića

Rast korjenovih dlačica i nadzemnog dijela lukovica praćen je 10 dana pri temperaturi od 20-25 °C. Nakon 10 dana svakoj lukovici izbrojen je točan broj korjenčića te je napravljena tablica s prosječnim brojem korjenčića lukovica svih uzoraka, kako bi se primijetile razlike u brzini rasta i mitozu.

Srednja vrijednost broja korjenčića za različite uzorke vode izračunata je prema izrazu:

M – srednja vrijednost

x – broj korjenčića

n - broj lukovica iz iste otopine

$$M = \frac{\sum x}{n}$$

Mjerenje duljine korjenčića i duljine nadzemnog dijela izdanka

Pomoću pomične mjerke (MEBA ZAGREB) na lukovicama u oba ponavljanja izmjerena je duljina svih korjenčića i nadzemni dio izdanka te je izračunata prosječna vrijednost duljine korjenčića i duljine nadzemnog dijela izdanka za svaku lukovicu.

Srednja vrijednost duljine korjenčića za lukovice iz različitih uzoraka vode, kao i srednja vrijednost duljina nadzemnog dijela izdanaka za lukovice izračunata je prema izrazu:

M - srednja vrijednost

x- duljina korjenčića (izdanaka)

n - broj lukovica (izdanaka)

$$M = \frac{\sum x}{n}$$

Fiksiranje i mikroskopiranje preparata korjenčića lukovice

Nekoliko svježih korjenčića lukovice odstranjeno je skalpelom te pincetom prebačeno u staklenu posudu s destiliranom vodom u periodu od jedne minute, a nakon toga korjenčići su prebačeni u staklenu posudu sa fiksativom pripremljenim od ledene octene kiseline i 96 % etanola u omjeru 1:3 (v/v) na 24 sata. Nakon 24 sata korijenčići su izvađeni iz fiksativa i prebačeni u aceto-karmin gdje su zagrijavali 2-3 minute do vrenja te su nakon toga ostavljeni 5 minuta kako bi se ohladili (Khanna i Sharma, 2013).

Pripremljeni preparati su mikroskopirani mikroskopom Olympus cx21 i fotografirani kamerom Dino-Eye AM 7023. Pregledano je 200 stanica po uzorku.

Mitotski indeks

Promatranim mikroskopskim preparatima tkiva korijena luka određene su faze mitoze te je izračunat mitotički indeks koji govori koliki je udio stanica promatranog luka u mitozu u odnosu na ukupan broj stanica promatranog uzorka (Fiskesjö 1985).



Mitotički indeks izračunat je prema slijedećem izrazu:

$$MI = \frac{\text{broj stanica u mitozu}}{\text{ukupan broj stanica}}$$

Osjetilna analiza

Osjetilna analiza provedena je uz pomoć 10 članova žirija koji su analizirali okus, izgled i miris vode. Svaki od parametara ocijenjen je ocjenom od 1 do 5.

Uzorci vode (100 ml) su u plastičnim čašama ponuđeni članovima žirija slučajnim rasporedom, pod šiframa. Svaki je uzorak ocjenjivan pojedinačno odmah nakon kušanja.

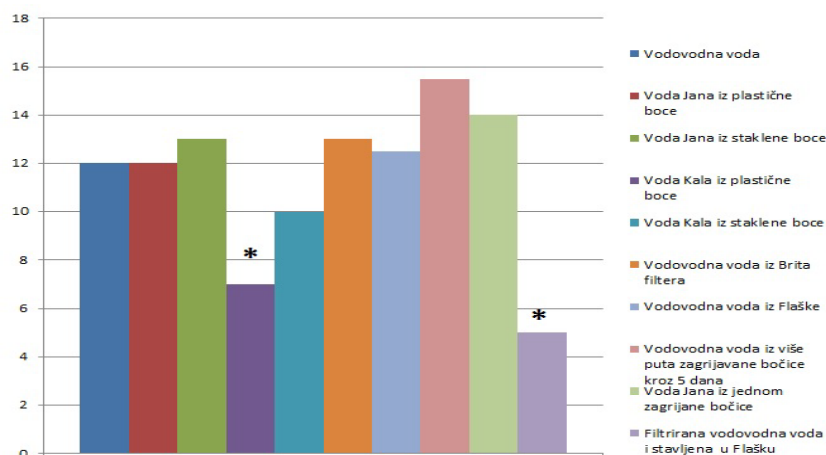
Statističke analize

Podaci su analizirani pomoću programa za obradu podataka Microsoft Excel 2010. Kao statistički značajni rezultati smatraju se vrijednosti različite na razini $p \leq 0,05$.

REZULTATI

Broj korjenčića

Prosječan broj korjenčića svake od lukovica koje su klijale u istim uzorcima vode tijekom 10 dana prikazani su na slici 1. Najveći broj korjenčića imale su lukovice u vodovodnoj vodi iz više puta korištene i zagrijavane bočice, a najmanji broj korjenčića imale su lukovice iz filtrirane vodovodne vode tretirane u Flaški i lukovice iz vode Kale u plastičnoj ambalaži što je i statistički značajan rezultat.

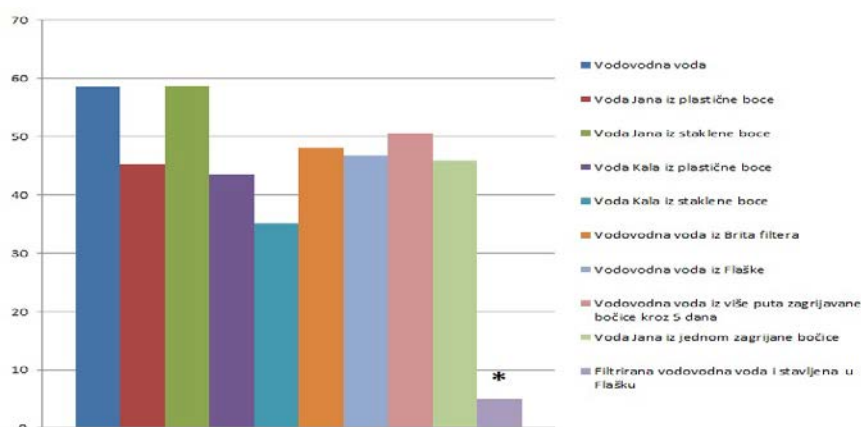


Slika 1 Prosječan broj korjenčića lukovica *Statistički značajno manje od ostalih uzoraka (t-test, $P < 0.05$)

Duljina korjenčića

Rezultati mjerenja prosječnih duljine korjenčića dviju lukovica koje su klijale u istim uzorcima vode prikazani su na slici 2.

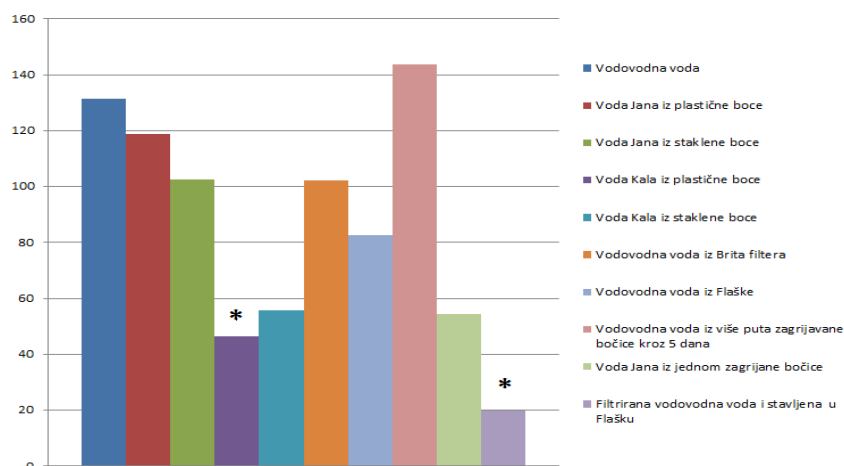
Najdulji korjenčići zabilježeni su kod lukovica koje su se nalazile u vodi Jani iz staklene bočice i vodovodnoj vodi, a najmanji broj imale su lukovice koje su klijale u filtriranoj vodi stavljenoj u Flašku što je i statistički značajan rezultat.

Slika 2 Prosječan duljine korjenčića lukovica u milimetrima *Statistički značajno manje od ostalih uzoraka (t-test, $P < 0.05$)

Duljina nadzemnog izdanka

Rezultati mjerenja duljine nadzemnog dijela izdanka prikazani su na slici 3.

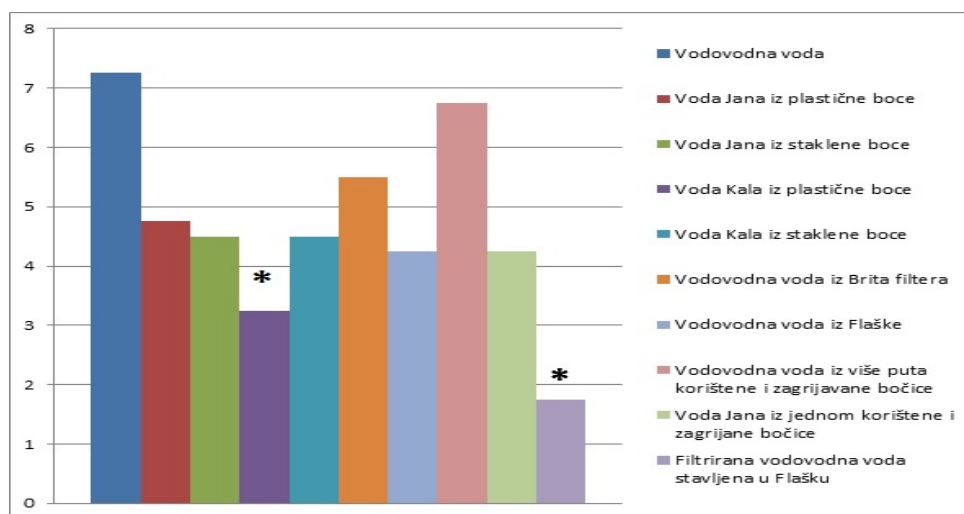
Najdulji nadzemni izdanak imale su lukovice koje su klijale u vodi iz više puta korištene i zagrijavane plastične bočice, a kod lukovica koje su klijale u filtriranoj vodi stavljenoj u Flašku i vodi iz plastične bočice Kala zabilježen je najmanji nadzemni izdanak.

Slika 3 Prosječan broj duljine nadzemnog dijela lukovica u milimetrima *Statistički značajno manje od ostalih uzoraka (t-test, $P < 0.05$)

Mitotski indeks

Mitotski indeks izračunat je nakon što je određen ukupan broj stanica u mitozu za lukovice iz različitih uzoraka vode. Dobiveni podaci prikazani su na slici 4.

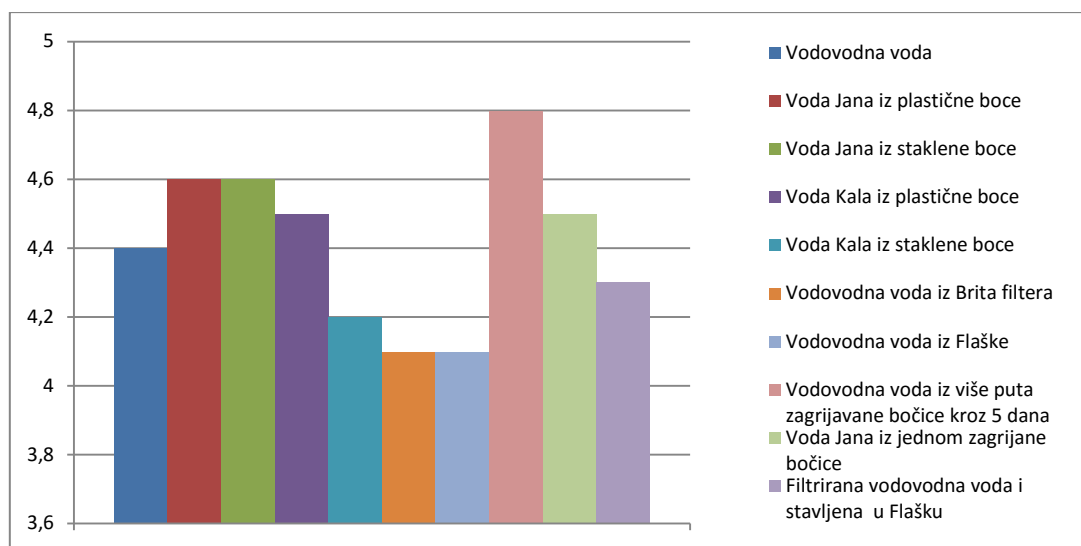
Najveći mitotski indeks imale su stanice korjenčića lukovica koje su klijale u vodovodnoj vodi, dok su najmanji mitotski indeks imale stanice iz filtrirane vodovodne vode stavljene u Flašku i stanice iz vode Kale u plastičnoj bočici.

Slika 4 Mitotski indeks izražen u postocima *Statistički značajno manje od ostalih uzoraka (t-test, $P < 0.05$)

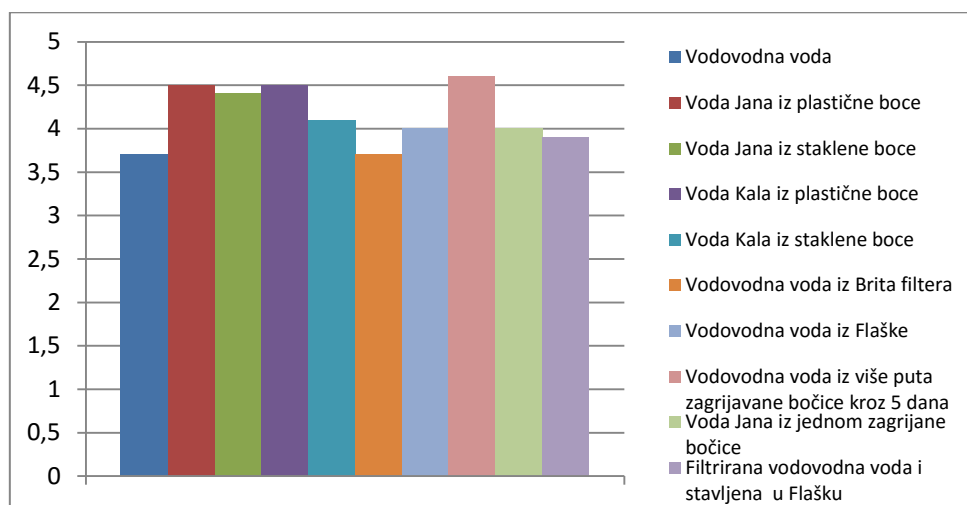
Osjetilna analiza

Tri osjetilna parametra (izgled, okus i miris) ocijenjeni su ocjenama od 1 do 5 od strane 10 članova žirija. Rezultati prosječnih ocjena izgleda vode prikazani su na slici 5. Najbolji izgled imala je vodovodna voda iz više puta korištene i zagrijavane bočice, dok su najlošiji izgled imale vodovodna voda iz Flaške i vodovodna voda iz Brita filtera.

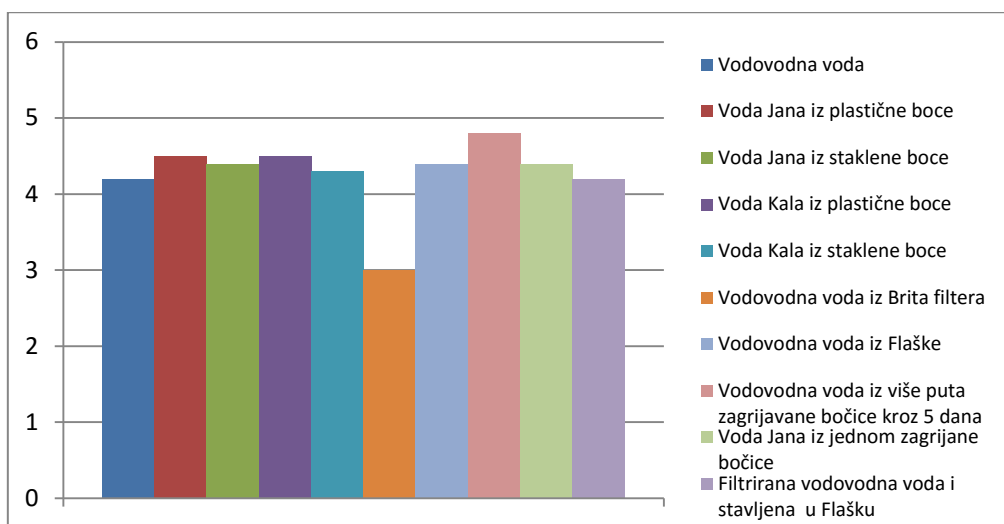
Rezultati prosječnih ocjena okusa i mirisa vode prikazani su na slici 6 i slici 7. Najbolji okus i miris imala je vodovodna voda iz više puta korištene i zagrijavane bočice, dok su najlošiji okus i miris imale vodovodna voda i vodovodna voda iz Brita filtera.



Slika 5 Prosječne ocjene izgleda različitih voda



Slika 6 Prosječne ocjene okusa različitih voda



Slika 7 Prosječne ocjene mirisa različitih voda

RASPRAVA

U ovom radu uz pomoć Allium testa istražen je utjecaj različitih vrsta vode na klijavost lukovice, odnosno pokušali smo utvrditi postoje li razlike u kvaliteti vode iz plastične i staklene ambalaže u odnosu na vodovodnu vodu te jesu li posude za filtraciju vode i njeno „oživljavanje“ zaista učinkovite, kao i navodno loš utjecaj višekratno korištenih plastičnih boca koje su bile izložene temperaturama iznad 35°C.

Prebrojani su i izmjereni korjenčići svake od lukovica tretiranih u različitim vodama, izmjerena je duljina nadzemnog dijela izdanaka te je određen mitotski indeks.

Najveći broj korjenčića zabilježen je kod lukovica iz zagrijanih bočica (vodovodna voda iz više puta korištene i zagrijavane bočice kroz pet dana na temperaturi od 35-40 °C i voda Jana iz jednom korištene i dva sata zagrijavane bočice na temperaturi od 35-40 °C). Ovakvi rezultati mogu biti posljedica otapanja različitih tvari iz plastike pod utjecajem visoke temperature koje su utjecale na intenzivan rast korjenčića lukovica. Statistički značajno najmanji broj korjenčića lukovice zabilježen je kod filtrirane vodovodne vode iz boce Flaška i vode Kala iz plastične ambalaže.



Nisu utvrđene značajne razlike u duljini korjenčića koji su tretirani u različitim vodama, no utvrđen je statistički znatno manji broj korjenčića u odnosu na vodovodnu vodu kod lukovica koje su se nalazile u filtriranoj vodovodnoj vodi stavljenoj u Flašku što može biti posljedica uklanjanja klor, pesticida ili teških metala.

Duljina nadzemnog izdanka bila je najveća kod više puta korištene i zagrijavane vode i filtrirane vode iz Flaške. Kod lukovica koje su se nalazile u vodi iz plastične Kale zabilježena je statistički najmanja duljina nadzemnog izdanka u odnosu na vodovodnu iz čega možemo pretpostaviti da je ova voda manje kvalitete u odnosu na ostale navedene vode. Posljedica toga može biti sastav plastike odnosno veće količine BPA u ambalaži plastične Kale što može negativno utjecati na hormonalnu ravnotežu čovjeka (Rubin, 2004). Također je filtrirana vodovodna voda iz Flaške u odnosu na vodovodnu imala statistički značajno manji dio nadzemnog izdanka.

Mitotski indeks bio je najviši u stanicama iz vodovodne vode (7.75 %) što upućuje na intenzivnu mitotsku aktivnost. Statistički značajan rezultat za najniži mitotski indeks zabilježen je u stanicama korijenčića lukovice koje su bile u filtriranoj vodovodnoj vodi iz Flaške što možemo povezati s duljim nadzemnim izdankom odnosno većom mitotskom aktivnosti u izdanku.

Skupina od 10 nasumično odabranih kušača je utvrdila kako vodovodna voda iz više puta zagrijavane bočice kroz pet dana na temperaturi od 35-40 °C ima najbolji okus, miris i izgled. Pretpostavljamo kao što je već prije navedeno da su tvari koje su se oslobodile iz plastične ambalaže zagrijavanjem poboljšale okus i miris ove vode. Najlošiji okus imala je vodovodna voda i filtrirana vodovodna voda u Brita filteru no ti rezultati nisu statistički značajni jer vrlo malo odskakuju od ostalih vrijednosti. Vodovodna voda tretirana je klorom te je to vjerojatno uzrok najlošijeg okusa. Možemo pretpostaviti da je uzrok lošeg okusa vode iz Brita filtera taj što filter uklanja organske tvari te mijenja okus vode na što ljudi nisu naviknuti te je zbog toga ocijenjena najlošije. Najlošijeg mirisa bila je filtrirana vodovodna voda iz Brita filtera, no rezultat nije statistički značajan. Nisu zabilježena značajnija odstupanja u okusu i mirisu kod ostalih vrsta voda.

Ovim radom utvrđeno je kako razlike u kvaliteti vode iz plastične i staklene boce u odnosu na vodovodnu postoje, te se najlošijom pokazala Kala iz plastične boce u kojoj su lukovice najlošije rasle odnosno zabilježen je najmanji broj korjenčića, duljina korjenčića i mitotski indeks. Ovakvi rezultati mogu biti posljedica pogreške tijekom izvođenja pokusa pa bi stoga bilo dobro ponoviti pokus s vodom Kalom i ostalim vodama u više ponavljanja s većim brojem lukovica. Najlošije su rasle lukovice koje su se nalazile u filtriranoj vodi stavljenoj u Flašku iz čega možemo pretpostaviti da ovakva kombinacija nije preporučljiva za primjenu. Voda iz Brita filtera i Flaške pojedinačno ne pokazuju značajna odstupanja u odnosu na ostale korištene vode, te čak u usporedbi s vodama iz plastičnih ambalaža u nekim parametrima daju bolje rezultate. U daljnjim istraživanjima predlažemo ponavljanje pokusa u većem broju ponavljanja te uključujući i vodu iz bočica kojima je prošao rok trajanja.

ZAKLJUČCI

- Postoje razlike u kvaliteti vode iz plastične i staklene boce u odnosu na vodovodnu vodu, te se najlošijom u kvaliteti pokazala voda Kala iz plastične ambalaže.
- Postoje razlike u kvaliteti vode pohranjenim u staklenim i plastičnim bocama.
- Najlošija voda je filtrirana vodovodna voda iz Brita filtera stavljena u Flašku.
- Voda tretirana u Flaški ili Brita filteru ne razlikuju se značajno svojom kvalitetom od ostalih.
- Voda iz zagrijavanih bočica pospješuje rast korijena i izdanka.



LITERATURA

- Blažević M., Samardžić I., Kolumbić Z., 2006. Razvoj uređaja za pripremu pitke vode u Slavonskom Brodu. Zbornik radova, Stručno- poslovni skup Suvremene tehnologije i uređaji za pročišćavanje pitkih voda i otpadnih voda (Poreč 8-12. 2006) <http://bib.irb.hr/prikazi-rad?rad=294481>
- Beverly Rubin S. B., 2011. Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects .The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 127: 27–34.
- Byatt A., Fothergill A., Holmes M. 2002. Vodeni svijet, U Byatt A. (ur.), Plavi planet: Priroda zemljinih mora i oceana. Izvori, Zagreb, str.16-21.
- Carpenter S. R., Caraco N. F., Correll D. L., Howarth R. W., Sharpley A. N., Smith V. H. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. Ecological Applications 8:559–568.
- Firbas P. Allium metafazni genotoksični test za testiranje pitne vode, okoljskih vzorcev in kemikalij: vzorec: pitna vodovodna voda <http://www.dana.si/Portals/0/ODani/AlliumBiometodalzhodisca.pdf> 23.12.2014.
- Fiskesjo G. 1985. The Allium test as a standard in environmental monitoring. Hereditas 102: 99-112.
- Khanna N., Sharma S., 2013.Allium cepa root chromosomal aberation assay. Indian J. Pharm. Biol. Res. 1(3): 105-119.
- Water, Sanitation and Health, Protection and the Human Environment, Nutrients in Drinking Water, World Health Organization , http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/nutrientsindw.pdf. 23.12.2014.

LIŠAJEVI OTOKA VISA

Lenka Ivčević, 1. razred

Marija Vitaljić, 1. razred

Srednja škola „Antun Matijašević Karamaneov“, Vis

Mentor: Josipa Poduje

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi sastav flore lišajeva na otoku Visu. Postaje su izabrane na način da se obuhvate različiti uvjeti koji mogu utjecati na sastav lihenoflore otoka Visa. Lišajevi su sakupljeni i fotografirani. Korišteni su odgovarajući ključevi za determinaciju i fotografije u dostupnoj literaturi. Mjerena je temperatura zemlje i zraka, pH vrijednost podloga na kojima rastu lišajevi te količina svjetlosti na postajama koje su istraživane. Determinirani lišajevi razvrstavani su prema vrsti podloge na kojoj rastu i tipu lišajne steljke. Određena je gustoća populacije pojedinih vrsta lišajeva na različitim podlogama i odabranim postajama, izračunata je dominantnost vrsta te Sørensenov indeks sličnosti među odabranim postajama. Na istraživanim postajama determinirane su 24 vrste lišajeva. Nalaze se pojedinačno i u zajednicama. Lišajevi su prisutni na različitim podlogama: stijene, tlo, kora drveća, zidovi kuća, humusna podloga. Najveći broj lišajeva uočen je na kori *Pistacia lentiscus* L. i na vapnenačkim stijenama. Lišaj *Xantoria parietina* (L.) Th. Fr. je najzastupljeniji lišaj uočen je na svim postajama. *Teloschistes chrysophthalmus* (L.) Th. Fr. prisutan je u jako malom broju jedinki, stoga treba ukazati na rijetkost tog lišaja na otoku. Najzastupljeniji su korasti lišajevi (66.67%), a potom slijede grmasti i listasti koji su podjednako zastupljeni (16.67%). Na stijenama vulkanskog podrijetla nema lišajeva. Na postaji 1 dominira *Caloplaca saxicola* (Hoffm.) Nordin, na postaji 2 *Diplotomma epipolium*, na postaji 3 *Caloplaca chalybaca* (Fr.) Müll. Arg., na postaji 4 *Caloplaca aurantia* (Pers.) Hellb., dok je na postajama 5 i 6 dominantna *Cladonia rangiformis* Hoffm. Najveća sličnost uočena je između 5. i 6. postaje i iznosi 100%, Sørensenov indeks sličnosti između 3. i 4. postaje iznosi 75%, sličnost 1. i 4. postaje je 33.33%, što pokazuje važnost utjecaj abiotičkih čimbenika na sastav lihenoflore otoka. Kod ostalih postaja sličnost nije uočena zbog utjecaja abiotičkih čimbenika. Lihenoflora Visa je bogata i potrebna su opsežnija istraživanja.

Ključne riječi: lihenoflora, Vis, abiotički čimbenici, podloge, sličnost populacija

UVOD

Otok Vis

Otok Vis svojim geografskim položajem pripada srednjodalmatinskoj skupini otoka. Na svom najdužem dijelu, koji spaja istok i zapad otoka, dug je 17 kilometara, a na onom koji spaja sjever s jugom 8 kilometara. Udaljen je od dalmatinskog kopna 45 do 55 kilometara, od najbližeg mu većeg otoka - Hvara oko 18 kilometara, a od najbliže točke talijanske obale 147 kilometara. Površine je 93.3 km. Nalazi se između 43° 12' i 43° 6' 48" sjeverne geografske širine te 16° 3' i 16° 15' 48" istočne geografske dužine. Prema podacima hidrometeorološke postaje u Komiži srednja godišnja temperatura zraka u posljednjih pet godina je 17,16 °C, a srednja godišnja količina oborina 841 mm.

Biologija lišajeva

Lišajevi (*Lichenes*) su složeni organizmi građeni od minimalno dva organizma, gljiva i algi i/ili cijanobakterija koji su združeni u simbiozu. Zadaća algi je da obavljaju fotosintezu, a cijanobakterije mogu i vezati dušik koji je potreban za sintezu bjelančevina. S druge strane, gljive pružaju zaštitu cijelom sustavu te pribavljaju vodu i minerale. Najviše mikobionata pripada odjeljku gljiva Ascomycota (98 %), a ostatak pripada odjeljku Basidiomycota i Deuteromycota, a alge su jednostanične zelene ili modrozelenene. Udružuju se u spužvasto tijelo, koje se također označuje kao micelij. Tim udruživanjem nastale su nove strukture, novi oblik života osebujnih morfoloških i fizioloških svojstava (Pavletić, 1998.). Broj lišajeva uglavnom ovisi o vrsti alge. Primjerice, lišajeva koji



imaju modrozeleno alge ima izrazito manje nego onih koji imaju zelene, što se može odrediti mikroskopom. (<http://www.slideshare.net/IvaStevovic/lišajevi>). Lišajevi pokrivaju oko 8% kopnene površine Zemlje i rastu na različitim površinama: stijenama, tlu, kori drveća, na površini umjetnih materijala. Lišajevi se dijele na koraste, listaste i grmaste. Korasti imaju izgled kore i čitavom svojom površinom prekrivaju podlogu na kojoj se nalaze. Najčešće se nalaze na stijenama. Teško ih se odvaja od podloge, a u pokušaju istog ih se može ozbiljno oštetiti. Listasti lišajevi podsjećaju na listove i najčešće se nalaze na korama drveća. Lako se skidaju s podloge i njihovim odvajanjem ne dolazi do oštećenja. Grmasti lišajevi imaju oblik vrlo razgranatog grmlja i najčešće se nalaze na granama drveća. Također ih se može lako odstraniti s podloge bez ikakvih oštećenja. Analizom građe lišajeva, promatranjem mikroskopom njihovih poprečnih presjeka, jasno uočavamo vanjski kožnati sloj gušćih hifa (zaštitni sloj), koji je često i obojen, slijedi sloj s relativno malo hifa i s mnogo stanica alga (asimilacijski sloj), zatim sloj s rahlo raspoređenim dugim hifama (sloj za izmjenu plinova) (Pavletić, 1998.). Kod lišajeva postoje tri, isključivo nesporna tipa razmnožavanja, a to su: razmnožavanje vegetativnim putem, razmnožavanje dijelovima talusa i regeneracija. Za bolje vegetativno razmnožavanje nastale su posebne tvorevine kao što su soredije i izidije. Soredije nalikuju na sićušne mikroskopske loptice izgrađene od nekoliko stanica algi gusto obavijenih hifama, kad se obrazuju u velikoj masi, kora lišaja puca i izumire, a soredije pokrivaju čitavo tijelo lišajeva te se one rasprostiru pomoću vjetra ili kiše te su veoma specifične za svaku vrstu. Zbog toga se prema njima vrši determinacija vrste lišaja. Izidije koje su u obliku izraslina prekriveni korom i tamnije su od ostatka tijela, a izgrađene su od hifa algi. Razlikuju se od soredija zbog kore, otkidaju se od tijela i raznose pomoću vjetra i kiše. Regeneracija je tip razmnožavanja kod kojeg se otkida dio talusa koji prenesen na podlogu stvori novi organizam (<http://www.slideshare.net/ljubichica/lišajevi?related=1>).

Ekologija lišajeva

Danas je poznato oko 25000 vrsta lišajeva. Lišajevi su rasprostranjeni po čitavome svijetu jer mogu izdržati vrlo ekstremne temperature. Smatra se da su pioniri vegetacije jer prvi naseljavaju neplodna tla te stvaraju plodno tlo za ostale organizme, sve što im je potrebno je dovoljno svjetlosti i vlage. Rastu vrlo sporo, a razlog tome je slabi intenzitet fotosinteze. Najčešće su oni na stijenama najstariji. U najvećoj količini lišajeva se može naći na hladnim područjima sjeverne Zemljine polutke. U sjevernim krajevima (Laponija) uz mahovine glavni su element vegetacije tundra i izvor hrane, pa time i čimbenik preživljavanja tamošnjih sobova. Pogoduje im vlažnost zraka, ali preživljavaju i najnepovoljnije uvjete, npr. dugotrajne suše u našem primorju. Najraznovrsniji su na područjima umjerene klime. U tropskim dijelovima Zemlje nisu raznovrsni, a njihova biomasa je mala. Razlog tome je što su na tom području rasprostranjene vaskularne biljke. Jednima od najstarijih se smatraju arktičke jedinke koje su starije od tisuću godina. Jedan od rijetkih ekoloških faktora koji ometaju njihov razvoj je onečišćenost zraka jer nemaju sposobnost izlučivanja apsorbiranih tvari nego ih nagomilavaju u tijelu. Brojna istraživanja potvrdila su osjetljivost lišaja na onečišćeni zrak, stoga se primjenjuju kao bioindikator kakvoće zraka. Pomoću lišajeva mogu se otkriti i druge onečišćujuće, odnosno štetne tvari prisutne u atmosferi, npr. radioaktivni izotopi; teški metali: Hg, Cd, Cr, Pb, Zn, Fe (Cicek i sur., 2008) i fluoridi, (Richardson, 1992). Negativnih svojstava za život čovjeka nemaju, ali zato korist od njih je višestruka. Zanimljivo je da su neke tvari koje stvaraju korisne u liječenju određenih bolesti. Moderna medicinska istraživanja pokazala su da 50% lišajskih vrsta ima antibiotska svojstva, te da protolihesterinska kiselina djeluje protutumorski (Gilbert, 2000). Imaju terapijsko djelovanje



zahvaljujući lišajskim kiselinama, od kojih neke imaju antibiotska svojstva, npr. usninska kiselina koja se dobiva iz lišajskih rodova *Evernia* i *Usnea*. Ta kiselina se koristi u proizvodnji krema za razne infekcije kože, šampone protiv prhuti, deodoranse i pudere za stopala. Islandski lišaj, *Cetraria islandica*, upotrebljava se za pročišćavanje dišnih puteva, a primjenjuje se u obliku čaja, sirupa i pastila za ublažavanje kašlja. Kod islandskog lišaja terapijski učinak ima protoliheterinska kiselina. Od lišajeva se dobivaju određene kiseline koje se primjenjuju u tekstilnoj industriji, te bojanju vune. Boja kojom se impregnira poznati lakmus-papir, nekada široko korišten indikator u analitičkoj kemiji, dobiva se iz talusa lišaja *Rocella phycopsis*. U sjevernoj Europi je vučji lišaj, *Letharia vulpina*, korišten je u mamcima za trovanje vukova i lisica (Nash, 2008).

Abiotički čimbenici

Temperatura i svjetlost su primarni abiotički čimbenici kojima sva živa bića moraju biti strogo prilagođena da bi opstala na određenom području. O ritmičkim promjenama osvjetljenja ovisi niz dnevnih i sezonskih pojava i aktivnosti kod biljaka i životinja (Jelenić i sur.2013.). Temperaturna kolebanja atmosfere su velika, osobito uz tlo koje se brzo zagrijava i hladi. pH vrijednost predstavlja koeficijent kiselosti ili lužnatosti o kojem ovisi prisutnost pojedinih organizama na podlogama.

OBRAZLOŽENJE TEME

Lišajevi su simbioza gljive i alge, a gljive mješinarke (rjeđe stapčarke) žive u simbiozi sa zelenim i modrozelenim algama. Alge u procesu fotosinteze pribavljaju organske tvari za sebe i gljivu dok gljiva pribavlja vodu, minerale i pruža zaštitu. Lišajevi podnose vrlo velika kolebanja temperature tako da su rasprostranjeni po cijelome svijetu, od ledenih pustinja Arktika i Antarktika pa sve do najsuših i najtoplijih pustinja svijeta. Lišajevi pokrivaju oko 8% kopnene površine Zemlje i rastu na različitim površinama: stijenama, tlu, kori drveća, na površini umjetnih materijala. Pioniri su vegetacije i lako nastanjuju svaku površinu ako imaju dovoljno svjetlosti i vlage. Bioindikatori su čistog zraka, a tvari, koje stvaraju lišajevi, imaju primjenu u liječenju nekih bolesti. Lihenoflora u Hrvatskoj je slabo istražena, a uvidom u dostupnu literaturu uočile smo da na otoku Visu nije bilo sustavnih istraživanja na ovom području. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi sastav flore lišajeva na otoku Visu. Postaje su izabrane na način da se obuhvate različiti uvjeti koji mogu utjecati na sastav lihenoflore otoka Visa. Lišajevi su sakupljeni i fotografirani. Korišteni su odgovarajući ključevi za determinaciju i fotografije u dostupnoj literaturi. Mjerena je temperatura zemlje i zraka, pH vrijednost podloga na kojima rastu lišajevi te količina svjetlosti na postajama koje su istraživane. Determinirani lišajevi razvrstavani su prema vrsti podloge na kojoj rastu i tipu lišajne steljke. Određena je gustoća populacije pojedinih vrsta lišajeva na različitim podlogama i odabranim postajama, izračunata je dominantnost vrsta te Sørensenov indeks sličnosti među odabranim postajama. Prije samog istraživanja postavljena je hipoteza da je lihenoflora otoka Visa raznolika pa očekujemo da će lišajevi biti prisutni na različitim podlogama: stijene, tlo, kora drveća, zidovi kuća. Također pretpostavljamo da lišajevi neće biti prisutni na stijenama vulkanskog podrijetla te da će postojati razlike u sastavu lišajeva na odabranim postajama kao posljedica abiotičkih čimbenika. U cilju edukacije učenika naše škole i lokalne zajednice bit će prezentirani rezultati istraživačkog rada, a osobita pažnja bit će posvećena ugroženim i zaštićenim vrstama lišajeva na našem otoku te važnosti lišajeva kao bioindikatora čistog zraka.

MATERIJAL I METODE RADA

Područje istraživanja

Područje istraživanja je otok Visa koji svojim geografskim položajem pripada srednjodalmatinskoj skupini otoka. Otok Visa je na svom najdužem dijelu, koji spaja istok i zapad otoka, dug 17 kilometara, a na onom koji spaja sjever s jugom 8 kilometara. Udaljen je od dalmatinskog kopna 45 do 55 kilometara, od najbližeg mu većeg otoka - Hvara oko 18 kilometara, a od najbliže točke talijanske obale 147 kilometara. Površine je 93.3 km. Nalazi se između 43° 12" i 43° 6' 48" sjeverne geografske širine te 16° 3' i 16° 15' 48" istočne geografske dužine. Prema podacima hidrometeorološke postaje u Komiži srednja godišnja temperatura zraka u posljednjih pet godina je 17,16 °C, a srednja godišnja količina oborina 841 mm. Za istraživanje je odabrano 6 postaja smještenih na različitim dijelovima otoka Visa koje su izabrane na način da se obuhvate različiti uvjeti koji mogu utjecati na sastav lihenoflore otoka Visa (Slika 1.).



Slika 1. Karta otoka Visa s označenim postajama gdje su sakupljani lišajevi (Komiža: K1-Vrh Gospe postaja 1.), K2- plaža Kamenice (postaja 2); Oključna – O (postaja 2); Vis – V (postaja 4); uvala Srebrna – S1 (postaja 5); uvala Stončica – S2 (postaja 6)

Terenski rad

Istraživanje je vršeno u razdoblju od rujna 2014. do prosinca 2014. Na odabranim postajama fotografiran je i sakupljan lišajski materijal. Vođen je terenski dnevnik u kojem su bilježeni: datum sabiranja, geografske koordinate, vrsta podloge, vrijednosti temperature zraka i tla, pH podloge, količina svjetlosti, vrsta lišaja te broj jedinki pojedine vrste lišajeva.

Mjerenje abiotičkih čimbenika na terenu

Mjerenje temperature

Temperatura zraka je mjerena alkoholnim termometrom 0-60 °C na visini 1,5 m iznad tla, a zatim je termometar postavljen neposredno ispod površine tla i očitana je vrijednost. Na svakom području izvršena su tri mjerenja te za konačan rezultat uzeta je srednja vrijednost svih mjerenja. Dobiveni rezultati bilježeni su u terenski dnevnik.



Mjerenje pH vrijednosti podloge na kojoj se nalaze lišajevi

Uzet je uzorak podloge i dodan u 0,5 l destilirane vode te ostavljen 12 h da odstoji, potom je izmjerena pH vrijednost pomoću univerzalnog indikator papira MACHEREY-NAGEL.

Procjena relativne količine svjetlosti

Vizualnom procjenom na svakoj lokaciji je određena relativna količina svjetlosti na način da je procijenjeno osvjetljenje raspoređeno u tri kategorije: mala, srednja i velika količina svjetlosti.

Sakupljanje i fotografiranje lišajskog materijala

Epifitski lišajski materijal sakupljan je s kore stabala i grana drveća do visine oko 2 m iznad tla. Za skidanje lišajeva korišten je nož. Sakupljeni materijal spremljen je u papirnatu vrećicu na kojima su zabilježeni terenski podaci. Lišajevi, koji su pronađeni na podlogama s kojih se ne mogu prikupiti, a da se pritom ne unište, fotografirani su i determinirani na terenu pomoću lupe SPIEGEL MY FIELD II 3,5x te su podaci zabilježeni u terenski dnevnik.

Određivanje gustoće populacije lišajeva

Na odabranim lokacijama označene su tri plohe površine 1 m². Na svakoj plohi određene su i imenovane vrste lišajeva. Prebrojavanjem jedinki određene vrste na označenoj plohi određena je gustoća populacije. Izračunata je prosječna vrijednost sviju ploha, a podaci su uneseni u terenski dnevnik.

Rad u učionici

Oblik i vanjska obilježja lišajskih talusa, bitnih za determinaciju, promatrani su u učionici pomoću lupe i mikroskopa. Suhi materijal prije promatranja je kratko namočen destiliranom vodom kako bi talusi bili rehidrirani. U laboratoriju su korišteni testovi obojenih reakcija talusa („spot“-reakcije) nanošenjem kapljice test-reagensa na korteks ili medulu, apotecije i sorale lišaja. Ovi testovi primjenjuju se u lihenologiji radi potvrde prisutnosti ili nedostatka specifičnih kemijskih spojeva koji mogu biti raspršeni ili strogo vezani za određena tkiva unutar talusa. Pojava specifičnog obojenja označava pozitivnu reakciju, a izostanak obojenja označava negativnu reakciju. Korišteni su sljedeći test-reagensi:

- kalijev hidroksid, KOH, 10 %-tna otopina – daje reakciju žute boje, žutu koja prelazi u crvenu, crvenu ili smeđu boju;
- kalcijev hipoklorit, Ca(OCl)₂, zasićena otopina – daje reakciju crvene, ružičaste, narančaste ili zelene boje.

Za determinaciju lišajeva korišten je priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja lišajeva (Partl, 2009).

Statistička analiza podataka

Prikupljeni materijal obrađen je kvalitativno i kvantitativno. Izračunata je srednja vrijednost gustoće populacije, dominantnost vrste te Sörensenov indeks sličnosti među postajama (Durbešić, 1988).

Dominantnost vrste

Izračunato je koja populacija dominira brojem jedinki na određenoj podlozi (usporedba vrsta lišajeva sakupljenih na različitim postajama i podlogama na tim postajama: kora drveća, stijene, tlo, zidovi



kuća). Ukupan broj jedinki jedne vrste lišajeva na staništu određene postaje podijeljen je s ukupnim brojem jedinki svih vrsta lišajeva na istom staništu, a kvocijent je pomnožen sa sto:

$$D_1 = \frac{a_1}{\sum_{i=1}^n a_i} \cdot 100 (\%)$$

D_1 - dominantnost vrste broj 1

a_1 - broj odraslih jedinki vrste broj 1 na jednom lokalitetu

$\sum_{i=1}^n a_i$ -ukupni broj odraslih jedinki na jednom lokalitetu svih vrsta

Vrijednosti su podijeljene u pet razreda: eudominantna, dominantna, subdominantna, recedentna, subrecedentna vrsta (Durbešić, 1988.).

Sørensenov indeks sličnosti

Sørensenov indeks sličnosti korišten je da bismo utvrdili sličnost među zajednicama lišajeva različitih postaja i podloga na postajama. Izračunat je prema formuli:

$$S = \frac{2 \cdot Z}{A + B} \cdot 100 (\%)$$

S- indeks sličnosti ili identičnosti dviju zajednica

A- broj vrsta jedne zajednice

B- broj vrsta druge zajednice koja se uspoređuje s prvom

Z- broj vrsta koje se pojavljuju na obje zajednice, broj zajedničkih vrsta.

(Durbešić, 1988.)

REZULTATI

Rezultati mjerenja fizikalno - kemijskih čimbenika

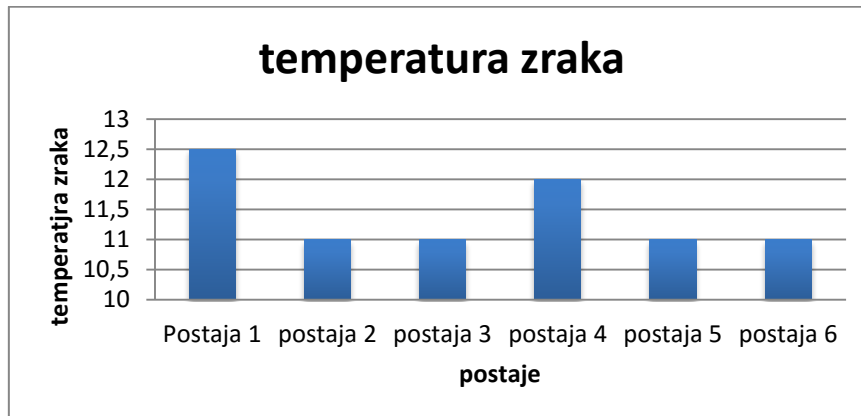
Na terenu su izvršena po tri mjerenja fizikalno- kemijskih čimbenika i prosječne vrijednosti unesene su u Tablicu 1.

Tablica 1. Prosječne vrijednosti fizikalno – kemijskih čimbenika

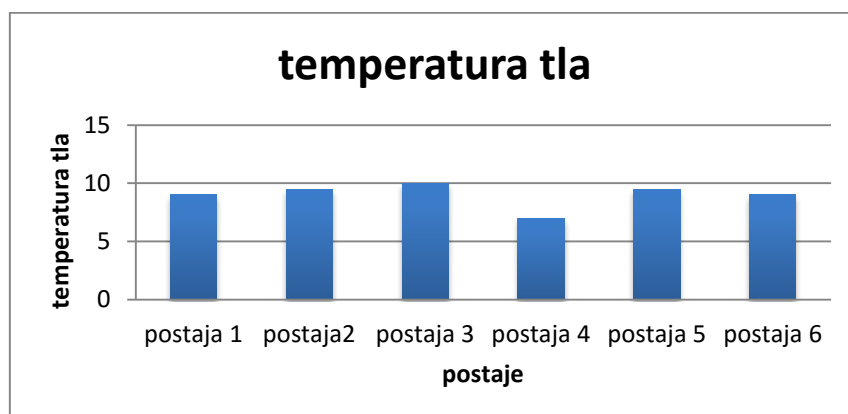
Čimbenici	Postaja 1	Postaja 2	Postaja 3	Postaja 4	Postaja 5	Postaja 6
Temperatura zraka / °C	12.5	11	11	12	11	11
Temperatura tla / °C	9	9.5	10	7	9.5	9
pH podloge	6	6	7	8	8	8
Relativna količina svjetlosti	srednja	srednja	velika	velika	slaba	slaba

Iz tablice se vidi da je prosječna temperatura zraka prve postaje najveća i iznosi 12,5°C, u četvrtoj iznosi 12°C, ostale postaje imaju jednaku temperaturu zraka koja iznosi 11°C. Razlika temperature između postaje s najnižom i najvišom temperaturom zraka je 1,5 °C (Slika 2.). Temperature tla kreću se od 7 do 10 °C te je najveće odstupanje između treće i četvrte, koje iznosi 3°C (Slika 3.).

Temperature zraka i tla razlikuju se kod svih postaja, a najveće odstupanje uočeno na postaji 4 i iznosi 5°C. Relativna količina svjetlosti na postajama 1 i 2 je srednja, na 3 i 4 velika, a 5 i 6 slaba.

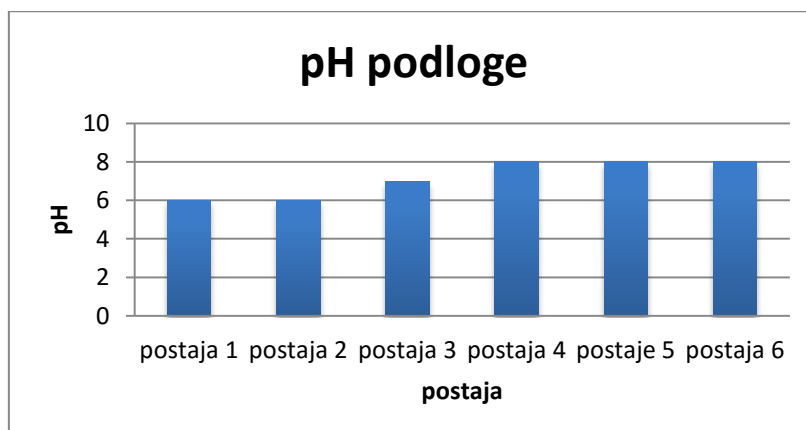


Slika 2. Vrijednosti temperature zraka na različitim postajama



Slika 3. Vrijednosti temperature tla na različitim postajama

pH vrijednosti podloga se kreću od 6 do 8. Najnižu pH vrijednost imaju prva i druga postaja i ona iznosi 6 što ukazuje na blagu kiselost, a najveći četvrta, peta i šesta u iznosu od 8 što ukazuje na blagu lužnatost. pH vrijednost treće postaje iznosi 7 (neutralno) (Slika 4.).



Slika 4. pH vrijednost podloga na različitim postajama



Utvrđene vrste lišajeva na istraživanim postajama

Na istraženim postajama utvrđeno je 24 vrsta svrstanih 7 redova i 13 porodica. Porodica *Teloschistaceae* je nazastupljenija vrstama tj. zastupljena je sa 8 vrsta.

Carstvo: FUNGI

Odjeljak: *Ascomycota*

Red: *Arthoniales*

Porodica: *Roccellaceae*

1. *Opegrapha* sp

Red: *Lecanorales*

Porodica: *Pilocarpaceae*

2. *Psilolechia lucida*(Ach.) M.Choisy

Porodica: *Stereocaulaceae*

3. *Lepraria* sp.

Porodica: *Parameliaceae*

4. *Parmelia sulcata* T.

5. *Flavoparmelia caperata*(L.) Hale

Red: *Peltigerales*

Porodica: *Placynthiaceae*

6. *Placynthium nigrum* (Hunds.) Gray

Red: *Pertusariales*

Porodica: *Ochrolechiaceae*

7. *Ochrolechia parella*.(L.).A.Massal.

8. *Ochrolechia* sp.

Porodica: *Pertusariaceae*

9. *Petrusaria amara* (Ach.) Nyl

Red: *Pyrenulales*

Porodica: *Monoblastiaceae*

10. *Acrocordia conoidea*(Fr) Korb.

Red: *Teloschistales*

Porodica: *Teloschistaceae*

11. *Xanthoria polycarpa* Hoffm.

12. *Xanthoria parietina* (L.)Th.Fr

13. *Caloplaca flavescens* (Huds.) J.R. Laundon

14. *Caloplaca saxicola* (Hoffm.) Nordin

15. *Caloplaca chalybaca*Fr.Mull.

16. *Caloplaca aurantia* (Pers.) Hellb

17. *Caloplaca* sp

18. *Teloschistes chrysophthalmus* (L.)Th.Fr

Porodica: *Caliciaceae*

19. *Amandinea punctata* (Hoffm.) Coppins and Scheid

Porodica: *Physciaceae*

20. *Diplotomma epipolium* (Ach.)Arnold

Porodica : *Cladoniaceae*

21. *Cladonia symphy carpia*(Florke)Fr.

22. *Cladonia pocillum*(Asc.) O.J. Rich

23. *Cladonia rangiformis* Hoffm.

Red: *Verrucariales*

Porodica: *Verrucariaceae*

24. *Verrucaria marmorea* (Scop.) Arnold

Lišajevi su sabirani i fotografirani (oni koji se ne mogu sabirati, a da se pritom ne unište) na 6 postaja. Uočeno je da se lišajevi nalaze pojedinačno i u zajednicama (Tablica 2.)

Tablica 2. Rasprostranjenost lišajeva u pojedinim postajama

Vrste lišajeva	Postaja 1	Postaja 2	Postaja 3	Postaja 4	Postaja 5	Postaja 6
<i>Amandinea punctata</i> (Hoffm.) Coppins and Scheid	-	-	+	-	+	-
<i>Acrocordia conoidea</i> (Fr.) Korb.	-	-	+	+	-	-
<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb	+	-	+	-	-	-
<i>Caloplaca chalybaca</i> Fr.Mull.	-	+	-	+	-	-
<i>Caloplaca flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon	-	+	-	+	-	-
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	+	-	-	+	-	+
<i>Caloplaca</i> sp.	-	-	+	-	-	+
<i>Cladonia pocillum</i> (Asc.) O.J. Rich	-	-	-	+	+	+
<i>Cladonia rangiformis</i> Hoffm	-	-	-	+	+	+
<i>Cladonia symphyocarpia</i> (Florke) Fr.	-	-	-	+	+	+
<i>Diplotomma epipolium</i> (Ach.) Arnold	-	+	+	-	-	-
<i>Flavoparmelia caperata</i> (L.) Hale	-	-	-	+	-	+
<i>Lepraria</i> sp.	+	-	+	-	-	+
<i>Ochrolechia parella</i> (L.) A.Massal.	-	-	-	+	-	+
<i>Ochrolechia</i> sp.	-	-	+	-	+	-
<i>Opegrapha</i> sp.	-	+	+	+	-	-
<i>Parmelia sulcata</i> T.	+	+	+	-	-	+
<i>Placynthium nigrum</i> (Hunds.) Gray	+	-	-	+	-	+
<i>Pertusaria amara</i> (Ach.) Nyl.	+	-	-	-	-	+
<i>Psilolechia lucida</i> (Ach.) M.Choisy	-	+	+	-	+	+
<i>Teloschistes chrysophthalmus</i> (L.) Th.Fr	-	-	+	-	-	-
<i>Xantoria parietina</i> (L.) Th.Fr	+	+	+	+	+	+
<i>Xanthoria polycarpa</i> Hoffm.	+	-	-	-	-	-
<i>Verrucaria marmorea</i> (Scop.) Arnold	-	-	+	+	-	-

Lišaj *Xantoria parietina* (L.) Th.Fr je najzastupljeniji epifitski lišaj uočen je na svim postajama (Slika 6). *Verrucaria marmorea* (Scop.) Arnold je u najvećem broju jedinki zapažena na postaji 3, dok je na postaji 2 uočena u znatno manjem broju . *Xanthoria polycarpa* Hoffm je uočen samo na postaji 1 dok je *Teloschistes chrysophthalmus* (L.) Th.Fr uočen samo na postaji 3 u jako malom broju jedinki, stoga treba ukazati na rijetkost tog lišaja na otoku Visu (Slika 5).

Slika 5. *Teloschistes chrysophthalmus* (L.) Th.Fr Slika 6. *Xantoria parietina* (L.) Th.Fr



Podloge na kojima rastu lišajevi

Istraživanjem postaja utvrđeno je da lišajeve nalazimo u 13 različitih vrsta podloga (Tablica 3.)

Tablica 3. Rasprostranjenost lišajeva prema vrsti podloge

Podloga	Vrsta lišajeva
Kora – <i>Tamarix africana</i> L.	<i>Parmelia sulcata</i> T. <i>Xantoria parietina</i> (L.) Th. Fr.
Kora – <i>Pistacia lentiscus</i> L.	<i>Ochrolechia</i> sp. <i>Pertusaria amara</i> (Ach.) Nyl <i>Teloschistes chrysophthalmus</i> (L.) Th. Fr. <i>Xantoria parietina</i> (L.) Th. Fr.
Kora – <i>Pinus halepensis</i> Miller	<i>Parmelia sulcata</i> T. <i>Xantoria parietina</i> (L.) Th. Fr.
Kora – <i>Cupressus sempervirens</i> L.	<i>Lepraria</i> sp.
Kora – <i>Ceratonia siliqua</i> L.	<i>Amandinea punctata</i> (Hoffm.) Coppins and Scheid <i>Ochrolechia</i> sp. <i>Xantoria parietina</i> (L.) Th. Fr.
Kora – <i>Quercus ilex</i> L.	<i>Ochrolechia</i> sp. <i>Parmelia sulcata</i> T. <i>Xantoria parietina</i> (L.) Th. Fr.
Kora – <i>Citrus sinensis</i> L.	<i>Parmelia sulcata</i> T. <i>Xanthoria polycarpa</i> Hoffm.
Humusna podloga	<i>Cladonia pocillum</i> (Asc.) O.J. Rich <i>Cladonia rangiformis</i> Hoffm. <i>Cladonia symphylicarpa</i> (Florke) Fr.
Zidovi – vapnenac, beton	<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb <i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin <i>Caloplaca</i> sp. <i>Caloplaca chalybaea</i> Fr. Mull.
Vapnenačke stijene – fliš	<i>Caloplaca flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon <i>Diplotomma epipolium</i> (Ach.) Arnold <i>Opegrapha</i> sp. <i>Psilolechia lucida</i> (Ach.) M. Choisy <i>Acrocordia conoidea</i> (Fr) Korb
Vulkanske stijene	<i>Nema</i>
Zidovi konjici	<i>Acrocordia conoidea</i> (Fr) Korb. <i>Caloplaca chalybaea</i> (Fr.) Müll. Arg. <i>Placynthium nigrum</i> (Huds.) Gray <i>Verrucaria marmorea</i> (Scop.) Arnold
Krovovi starih kuća	<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb

Istraživanjem je uočeno da se lišajevi nalaze na različitim podlogama. Najveći broj lišajeva uočen je na kori *Pistacia lentiscus* L. to su epifitski lišajevi te na vapnenačkim stijenama. Na vapnenačkim podlogama nalazi se najveći broj vrsta, determinirano je 10 vrsta, ali uočeno je još vrsta koje nismo uspjeli odrediti to je u planu slijedećih istraživanja. Na četinjačama su zabilježene 4 vrste lišajeva: *Lecanora* sp., *Parmelia sulcata* T., *Xantoria parietina* (L.) Th. Fr. i *Lepraria* sp., što je mali broj s obzirom da četinjače dominiraju na postajama koje smo istraživali. Lišaj *Xantoria parietina* (L.) Th. Fr. je najzastupljeniji epifitski lišaj uočen je na svim postajama.

Zastupljenost životnih oblika lišajeva

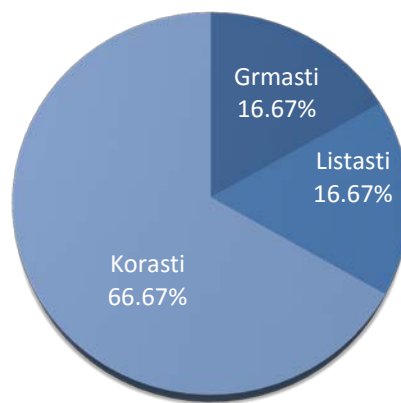
Utvrđena je prisutnost svih životnih oblika lišajeva kod 24 vrsta lišajeva, 4 vrste pripadaju lišajevima s listastim talusom, 4 onima s grmastim talusom, 16 vrsta onima s korastim talusom (Tablica 4.).



Tablica 4. Životni oblici lišajeva

Životni oblik lišajeva	Vrste lišajeva
Lišajevi s listastim talusom	<i>Flavoparmelia caperata</i> (L.) Hale <i>Parmelia sulcata</i> T. <i>Xanthoria parietina</i> (L.) Th. Fr. <i>Xanthoria polycarpa</i> Hoffm.
Lišajevi s grmastim talusom	<i>Cladonia pocillum</i> (Asc.) O.J. Rich <i>Cladonia rangiformis</i> Hoffm. <i>Cladonia symphyocarpia</i> (Florke) Fr. <i>Teloschistes chrysophthalmus</i> (L.) Th. Fr.
Lišajevi s korastim talusom	<i>Acrocordia conoidea</i> (Fr.) Korb. <i>Amandinea punctata</i> (Hoffm.) Coppins and Scheid <i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb <i>Caloplaca chalybaca</i> (Fr.) Müll. Arg. <i>Caloplaca flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon <i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) <i>Caloplaca</i> sp. <i>Diplotomma epipolium</i> (Ach.) Arnold <i>Lepraria</i> sp. <i>Ochrolechia parella</i> (L.) A. Massal. <i>Ochrolechia</i> sp. <i>Opegrapha</i> sp. <i>Pertusaria amara</i> (Ach.) Nyl. <i>Placynthium nigrum</i> (Huds.) Gray <i>Psilolechia lucida</i> (Ach.) M. Choisy <i>Verrucaria marmorea</i> (Scop.) Arnold

Prema zastupljenosti životnih oblika utvrđeno je da su najzastupljeniji korasti lišajevi (66.67%), a potom slijede grmasti i listasti koji su podjednako zastupljeni (16.67%) (Slika 7.)



Slika 7. Spekter životnih oblika otoka Visa

Rezultati određivanja gustoće

Istraživanjem populacije lišajeva pojedinih postaja uočeno je da lišajevi žive pojedinačno i u zajednicama. Na postajama su izabrane podloge na kojima se nalaze lišajevi u zajednicama. Prebrojavanjem jedinki određene vrste na plohi od 1 m² određena je gustoća lišajeva na pojedinim postajama.



Tablica 5. Gustoća populacije lišajeva na pojedinim postajama

	Broj jedinki na 1 m ²	Vrste lišajeva
Postaja 1	89 79	<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin <i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb
Postaja 2	84 105 15 16	<i>Opegrapha</i> sp. <i>Diplotomma epipolium</i> (Ach.) Arnold <i>Caloplaca flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon <i>Psilolechia lucida</i> (Ach.) M.Choisy
Postaja 3	40 42 70 20	<i>Placynthium nigrum</i> (Hunds.) Gray <i>Verrucaria marmorea</i> (Scop.) Arnold <i>Caloplaca chalybaca</i> (Fr.) Müll. Arg. <i>Acrocordia conoidea</i> (Fr.) Korb.
Postaja 4	20 10 25 15	<i>Caloplaca chalybaca</i> (Fr.) Müll. Arg. <i>Acrocordia conoidea</i> (Fr.) Korb. <i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb <i>Placynthium nigrum</i> (Hunds.) Gray
Postaja 5	65 20 35	<i>Cladonia rangiformis</i> Hoffm. <i>Cladonia pocillum</i> (Asc.) O.J. Rich <i>Cladonia symphylicarpia</i> (Florke) Fr.
Postaja 6	60 34 17	<i>Cladonia rangiformis</i> Hoffm. <i>Cladonia pocillum</i> (Asc.) O.J. Rich <i>Cladonia symphylicarpia</i> (Florke) Fr.

Najveći broj jedinki zapažen je na Postaji 2 i najbrojniji lišaj je *Diplotomma epipolium* (Ach.) Arnold sa 105 izbrojanih jedinki na 1 m², najmanji broj jedinki ima lišaj *Acrocordia conoidea* (Fr.) Korb. koji se nalazi na postaji 4. Uočeno je svega 10 jedinki u zajednici koja je promatrana.

Rezultati statističke obrade

Dominantnost vrsta po postajama

Pomoću formule za dominantnost vrste izračunata je dominantnost vrsta po postajama te indeks sličnosti između postaja (Tablica 6).

Tablica 6. Dominantnost vrste po postajama

	Dominantnost vrste (%)					
	Postaja 1	Postaja 2	Postaja 3	Postaja 4	Postaja 5	Postaja 6
<i>Acrocordia conoidea</i> (Fr.) Korb.	0.00	0.00	11.63	16.67	0.00	0.00
<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb	47.02	0.00	0.00	35.71	0.00	0.00
<i>Caloplaca chalybaca</i> (Fr.) Müll. Arg.	0.00	0.00	40.70	33.33	0.00	0.00
<i>Caloplaca flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon	0.00	7.27	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	52.98	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Cladonia pocillum</i> (Asc.) O.J. Rich	0.00	0.00	0.00	0.00	16.67	30.63
<i>Cladonia rangiformis</i> Hoffm.	0.00	0.00	0.00	0.00	54.17	54.05
<i>Cladonia symphylicarpia</i> (Florke) Fr.	0.00	0.00	0.00	0.00	29.17	14.17
<i>Diplotomma epipolium</i> (Ach.) Arnold	0.00	47.73	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Opegrapha</i> sp.	0.00	38.18	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Placynthium nigrum</i> (Hunds.) Gray	0.00	0.00	23.26	25.00	0.00	0.00
<i>Psilolechia lucida</i> (Ach.) M.Choisy	0.00	6.82	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Verrucaria marmorea</i> (Scop.) Arnold	0.00	0.00	24.42	0.00	0.00	0.00

Analizom rezultata uočeno je da na postaji 1 dominira *Caloplaca saxicola* (Hoffm.) Nordin (Slika 9), na postaji 2 *Diplotomma epipolium*, na postaji 3 *Caloplaca chalybaca* (Fr.) Müll. Arg., na postaji 4 *Caloplaca aurantia* (Pers.) Hellb, dok je na postajama 5 i 6 dominantna *Cladonia rangiformis* Hoffm (Slika 8).

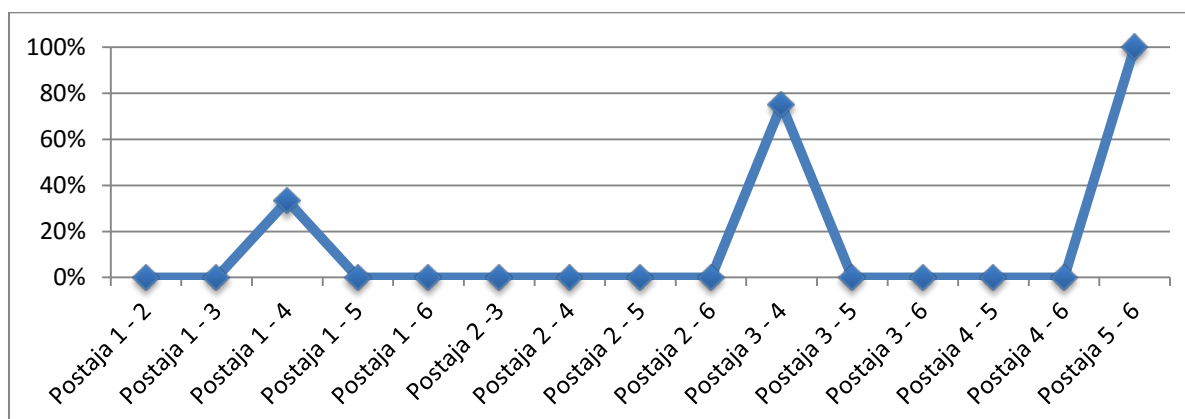
Slika 8. *Cladonia rangiformis* HoffmSlika 9. *Caloplaca saxicola* (Hoffm.)Nordin**Sörensenov indeks sličnosti**

Kako bi usporedili zajednice na postajama, korišten je Sörensenov indeks sličnosti (Tablica 7.).

Tablica 7. Sörensenov koeficijent sličnosti

Sörensenov koeficijent sličnosti / %	
Postaja 1 – 2	0
Postaja 1 – 3	0
Postaja 1 – 4	33.33
Postaja 1 – 5	0
Postaja 1 – 6	0
Postaja 2 – 3	0
Postaja 2 – 4	0
Postaja 2 – 5	0
Postaja 2 – 6	0
Postaja 3 – 4	75
Postaja 3 – 5	0
Postaja 3 – 6	0
Postaja 4 – 5	0
Postaja 4 – 6	0
Postaja 5 – 6	100

Najveća sličnost uočena je između 5. i 6. postaje i iznosi 100%, Sörensenov indeks sličnosti između 3. i 4. postaje iznosi 75%, sličnost 1. i 4. postaje je 33.33%. Kod ostalih postaja sličnost nije uočena (Slika 10).



Slika 10. Sörensenov indeks sličnosti između postaja



RASPRAVA

Lišajevi su jedna od najmanje istraživanih skupina organizama iako čovjek od njih ima višestruku korist zbog toga su tema ovog istraživačkog rada bili upravo lišajevi. Uz pomoć dostupne literature uglavnom na internetu jer je u drugačijem obliku teško dostupna determinirale smo 24 vrste lišajeva na 6 ispitivanih postaja. Postaje su izabrane zbog različitog geografskog položaja na otoku te vrsta tla: vapnenac, dolomit, vulkanske stijene (Korbar i sur.2013). Analizom rezultata fizikalno-kemijskog ispitivanja utvrđeno je da ne postoje velika odstupanja u temperaturi zraka između različitih postaja iznosi 1,5°C što je u skladu sa uvidom u temperature unazad desetak godina koje smo dobile u meteorološkoj postaji u Komiži (Slika 2). Također ne postoje velika odstupanja u temperaturi tla, najveća razlika uočena je na postaji 4 i iznosi 5°C (Slika 3). pH vrijednost tla na postajama 1 i 2 je blago kisela, na postaji 3 je neutralna dok je na postajama 5, 6 i 7 blago lužnata, razlog tome su različite vrste podloga (vapnenac ili humusna podloga) (Slika 4). Relativna količina svjetlosti na postajama 1 i 2 je srednja, na 3 i 4 velika, a 5 i 6 slaba to je ovisilo o tome da li je promatrana površina bila direktno dostupna sunčevim zrakama ili je u sjeni drveća (Tablica 1.). Najzastupljenija je porodica *Teloschistaceae* sa ukupno 8 vrsta. Uočeno je da se lišajevi nalaze pojedinačno i u zajednicama (Tablica 2). Lišaj *Xantoria parietina* (L.)Th.Fr je najzastupljeniji epifitski lišaj uočen je na svim postajama (Slika 6) jer je to vrsta lišaja koji optimalno rastu na podlogama bogatim nutrijentima, zahtijevaju gotovo neutralnu koru, te su općenito poznate po toleranciji na onečišćenja. Nalazimo ih na stablima bliže cesti i na granama koje su dobro impregnirane prašinom (<http://biologija.unios.hr/webbio/wpcontent/uploads/2014/diplomski/znanstveni/maksima.vujnovic.pdf>). Lišaj *Teloschistes chrysophthalmus* (L.)Th.Fr uočen samo na postaji 3 u jako malom broju jedinki, stoga treba ukazati na rijetkost tog lišaja na otoku Visu i samim tim zaštititi od uništavanja (Slika 5). Prema Pavletić (2008.) lišajeve možemo pronaći na različitim podlogama što je u ovom radu i utvrđeno jer smo uočili lišajeve na kori drveća, vapnenačkim stijenama, zidovima, humusnoj podlozi čak i na zidovima i krovovima kuća (Tablica 3). Najveći broj lišajeva uočen je na kori *Pistacia lentiscus* L. (epifitski lišajevi) te na vapnenačkim stijenama. Prirodni vegetacijski pokrov pripada mediteranskoj šumskoj zajednici česmine i hrasta crnike razreda *Quercetea ilicis* koja je najčešće zastupljena u svojem degradacijskom obliku makiji kojem i pripada *Pistacia lentiscus* L. (http://www.impdu.com/downloadRadovi/30_07_Kartiranje_flore_Dalmacije_u_prioritetnim_podrucjima_S.pdf). Na četinjačama su zabilježene 4 vrste lišajeva: *Lecanora* sp., *Parmelia sulcata* T., *Xantoria parietina* (L.)Th.Fr i *Lepraria* sp., što je mali broj s obzirom da četinjače dominiraju na postajama koje smo istraživali. Razlog tome su prema Vujnović (2013) četinjače su inače slabije obrasle lišajevima zbog njihove prirodno kisele kore (pH od 3,0 do 4,5), vrlo niskog vodnog kapaciteta, te veće koncentracije mangana i smole. Utvrđena je prisutnost svih životnih oblika lišajeva kod 24 vrsta lišajeva, 4 vrste pripadaju lišajevima sa listastim talusom, 4 onima s grmastim talusom, 16 vrsta onima s korastim talusom (Tablica 4). Prema zastupljenosti životnih oblika utvrđeno je da su najzastupljeniji korasti lišajevi (66.67%), a potom slijede grmasti i listasti koji su podjednako zastupljeni (16.67%) (Slika 7). Oko 80% svih lišajeva su korasti i oni uglavnom rastu na stijenama (<http://www.planeta.org.rs/27/5lihenologija.htm>). Najveći broj jedinki lišaja zapažen je na postaji 2 i najbrojniji lišaj je *Diplotomma epipolium* (Ach.) Arnold sa 105 izbrojanih jedinki na 1 m², najmanji broj jedinki ima lišaj *Acrocordia conoidea* (Fr.) Korb. koji se nalazi na postaji 4. Uočeno je svega 10 jedinki u zajednici koja je promatrana (Tablica 5). Kako bi utvrdili koji lišajevi su u najvećem broju zastupljeni na postajama odredile smo dominantne vrste prema Durbešić (1988) i uočeno je da na postaji 1 dominira *Caloplaca saxicola* (Hoffm.) Nordin (Slika 9), na postaji 2



Diplotomma epipolium, na postaji 3 *Caloplaca chalybaca* (Fr.) Müll. Arg., na postaji 4 *Caloplaca aurantia* (Pers.) Hellb, dok je na postajama 5 i 6 dominantna *Cladonia rangiformis* Hoffm (Slika 8). U radu smo i usporedili postaje pomoću Sørensenovog indeksa sličnosti kako bi utvrdili utjecaj abiotičkih čimbenika na sastav zajednica različitih postaja. Najveća sličnost uočena je između 5. i 6. postaje i iznosi 100%, razlog tome su iste podloge (humusna podloga) i abiotički čimbenici koji su podjednaki kod obe postaje (Tablica 1.). Sørensenov indeks sličnosti između 3. i 4. postaje iznosi 75%, sličnost 1. i 4. Postaje je 33.33% (Tablica 7). Kod ostalih postaja sličnost nije uočena jer je razlika u abiotičkim čimbenicima značajnija. Tijekom istraživanja uočeno je još vrsta lišajeva koje nismo uspjele odrediti te stoga planiramo nastaviti istraživanje lišajeva na našem otoku i na drugim lokacijama.

ZAKLJUČCI

U skladu s dobivenim rezultatima može se zaključiti:

- na istraživanim postajama determinirale smo 24 vrste lišajeva: *Opegrapha* sp., *Psilolechia lucida*(Ach.) M.Choisy, *Lepraria* sp., *Parmelia sulcata* T., *Flavoparmelia caperata*(L.) Hale, *Placynthium nigrum* (Huds.) Gray, *Ochrolechia parella*.(L.).A.Massal., *Ochrolechia* sp., *Petrusaria amara* (Ach.) Nyl, *Acrocordia conoidea*(Fr) Korb., *Xanthoria polycarpa* Hoffm., *Xanthoria parietina* (L.)Th.Fr, *Caloplaca flavescens*(Huds.) J.R. Laundon, *Caloplaca saxicola* (Hoffm.) Nordin, *Caloplaca chalybaca* Fr.Müll., *Caloplaca aurantia* (Pers.) Hellb, *Caloplaca* sp, *Teloschistes chrysophthalmus* (L.)Th.Fr, *Amandinea punctata* (Hoffm.) Coppins and Scheid, *Diplotomma epipolium* (Ach.)Arnold, *Cladonia symphyrcarpia*(Florke)Fr., *Verrucaria marmorea* (Scop.) Arnold, *Cladonia pocillum*(Asc.) O.J. Rich, *Cladonia rangiformis* Hoffm.
- lišajevi su prisutni na različitim podlogama: stijene, tlo, kora drveća, zidovi kuća, humusna podloga
- nalaze se pojedinačno i u zajednicama
- najveći broj lišajeva uočen je na kori *Pistacia lentiscus* L. i na vapnenačkim stijenama
- lišaj *Xanthoria parietina* (L.)Th.Fr je najzastupljeniji lišaj uočen je na svim postajama
- *Teloschistes chrysophthalmus*(L.)Th.Fr prisutan je u jako malom broju jedinki, stoga treba ukazati na rijetkost tog lišaja na otoku
- najzastupljeniji su korasti lišajevi (66.67%), a potom slijede grmasti i listasti koji su podjednako zastupljeni (16.67%)
- na stijenama vulkanskog podrijetla nema lišajeva
- na postaji 1 dominira *Caloplaca saxicola* (Hoffm.) Nordin, na postaji 2 *Diplotomma epipolium*, na postaji 3 *Caloplaca chalybaca* (Fr.) Müll. Arg., na postaji 4 *Caloplaca aurantia* (Pers.) Hellb, dok je na postajama 5 i 6 dominantna *Cladonia rangiformis* Hoffm
- najveća sličnost uočena je između 5. i 6. postaje i iznosi 100%, Sørensenov indeks sličnosti između 3. i 4. postaje iznosi 75%, sličnost 1. i 4. postaje je 33.33%. Kod ostalih postaja sličnost, što potvrđuje pretpostavku o učinku abiotičkih čimbenika na sastav lihenoflore otoka
- otok Vis bogat je lišajskom florom te je nužno cjelovitije istraživanje

LITERATURA

Alegro A., Krajačić M., Lucić A. 2014. Život 2. Školska knjiga, Zagreb



- Cicek A, Kopaal As, Aslan S, Yazici K. 2008: Accumulation of Heavy Metals from Motor Vehicles in Transplanted Lichens in an Urban Area. *Commun. Soil. Sci. Plant* 39: 168-176
- Durbešić P. 1988. Upoznavanje i istraživanje kopnenih člankonožaca. Hrvatsko ekološko društvo, Zagreb
- Gilbert O. 2000. Lichens. Harper Collins Publishers, London. 288 pp.
- Lalić, Lj., Lišajevi, Slideshare, URL: <http://www.slideshare.net/ljubichica/lishajevi?related=1>, 12.10.2014.
- Lichens of Ireland, URL: <http://www.lichens.ie>, 21.01.2015.
- Lichtenthal M., Bogut I., Čerba D., Marceljak Ilić M., 2010. Biologija 4, Alfa, Zagreb
- Nash III TH. 2008. Lichen biology. Second Edition. Cambridge University Press, Cambridge. 486 pp
- Partl, A. (2009.), Lišajevi-priručnik za inventarizaciju i praćenje lišajeva, URL: http://www.dzrp.hr/dokumenti_upload/20100317/dzrp201003171109370.pdf (10.11.2014.)
- Pavletić Z., 1998. Biologija 2. Profil International, Zagreb
- Richardson Dhs. 1992. Pollution monitoring with lichens. The Richmond Publishing Co. Ltd., Slough. 76 pp.
- Sharnoff, S., Lichens Home Page, URL: http://www.sharnoffphotos.com/lichens/lichens_home_index.html, 22.10.2014
- Stevović, I. (2008.), Lišajevi, Slideshare, URL: <http://www.slideshare.net/IvaStevovic/lishajevi>, 20.11.2014.
- Stridvall Family Domain, Lichen Gallery, URL: <http://www.stridvall.se/lichens/gallery>, 21.01.2015.
- The British Lichen Society, URL: www.britishtichensociety.org.uk, 23.11.2014.

UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA KRATKOROČNO PAMĆENJE

Lucija Malinar, 1. razred

Ena Stefanov, 1. razred

Prirodoslovna škola Vladimira Preloga, Zagreb

Mentor: Željko Krstanac

SAŽETAK

Pamćenje je sposobnost kore velikog mozga da pohranjuje podatke ili doživljava. Postoje tri različite faze odnosno vrste pamćenja: senzoričko, kratkoročno i dugoročno. Informacije iz senzoričkog pamćenja prelaze u kratkoročno pamćenje, a daljnjim ponavljanjem i u dugoročno pamćenje. Taj proces događa se svaki puta kada učimo neko novo školsko gradivo. U ovome ispitivanju željele smo ispitati imaju li neka eterična ulja povoljan učinak na kratkoročno pamćenje te nam na taj način mogu pomoći i prilikom učenja. Odabrale smo tri eterična ulja za koje se smatra da djeluju na pamćenje. Koristile smo eterično ulje cedra, ružmarina i slatke naranče. Istraživanje smo provele na trima eksperimentalnim skupinama dok je četvrta skupina bila kontrola. Svi ispitanici su bili izloženi istim uvjetima. Sve skupine su dobile istih 20 pojmova. U učionice smo postavile mirisne lampice i pustile da se miris eteričnog ulja rasprši po učionici. Ispitanike smo prepustili djelovanju eteričnih ulja na 35 minuta. Nakon toga su dobili pojmove koje su trebali zapamtiti u roku od 2 minute. Zatim su imali nove 2 minute da zapišu što više pojmova kojih se sjećaju. Svrstale smo sve dobivene podatke u tablice i izrazile ih u postocima ujedno smo odredile najveći i najmanji broj zapamćenih pojmova. Najbolji rezultat je imala skupina pod utjecajem cedra, a to je 80%, zatim slijedi postotak skupine koja je bila izložena mirisu ružmarina koji iznosi 73,9%, skupina koja je bila izložena mirisu slatke naranče postigla je postotak od 71,9%. Svi ti rezultati su veći od postotka (67%) kontrolne skupine što potvrđuje našu pretpostavku. Eterična ulja su podijeljena u 4 kategorije po jačini njihovog mirisa- izuzetno jaki, jaki, srednji i slabi. Ružmarin pripada skupini jakih mirisa, slatka naranča skupini srednjih mirisa te cedar slaboj skupini mirisa. Cedar je pokazao najveću učinkovitost što znači da jačina djelovanja ne ovisi o jačini mirisa. Ovim istraživanjem smo dokazali da eterična ulja su zdrava alternativa za pomoć pri učenju.

Ključne riječi: *cedar, slatka naranča, ružmarin*

UVOD

Tri faze pamćenja

Pamćenje je sposobnost kore velikog mozga da pohranjuje podatke ili doživljava. Postoje tri različite faze odnosno vrste pamćenja: senzoričko, kratkoročno i dugoročno. Senzoričko pamćenje je prva faza pamćenja koja sudjeluje u susretu s podražajem. Ono može samo kratko sadržati senzorne informacije. Primjerice vidimo li neki nasumični red slova na samo jednu sekundu taj vidni doživljaj ostao bi u našem pamćenju također samo jednu sekundu. Ako smo duže vremena usmjereni na senzorne podatke oni će se prebaciti u kratkotrajno pamćenje. Kratkoročno pamćenje je druga faza pamćenja koja zadržava podatke oko 1 min nakon nestanka podražaja. Ta vrsta pamćenja naziva se još i radno pamćenje. Podaci iz kratkoročnog pamćenja mogu nestati ili se mogu ponavljanjem prebaciti u dugoročno pamćenje. Dugoročno pamćenje je zadnja faza pamćenja koja je u stanju trajno pohraniti upamćene podatke (Rathus, 2000).

Eterična ulja i aromaterapija

Korijeni aromaterapije sežu daleko u prošlost u vrijeme starih Egipćana. To je umijeće iscjeljivanja koje se bazira na eteričnim uljima aromatičnih biljaka, a ima blagotvoran učinak na tijelo i um. Eterična ulja koja se koriste u aromaterapiji su smjese hlapivih, biološki aktivnih tvari koje se obično dobivaju parnom destilacijom iz aromatičnih biljaka, a sastoje se od mnogo komponenata poput terpena, alkohola, aldehida i estera. Eterična ulja dobivaju se iz raznih dijelova biljaka primjerice

korijena, kore drveta, lišća, latica, sjemenaka... Eterična ulja koriste se u regulaciji krvnog tlaka, regulaciji probave, a mnoga djeluju i na živčani sustav te se smatra da imaju pozitivan učinak i na pamćenje. Postoje dva načina dovođenja eteričnih ulja u tijelo. Prvi način je da se ulja nanese direktno na kožu i tako dolaze u krvotok, a drugi način je udisanje aromatičnih molekula koje procesom difuzije dolaze do okolnih krvnih kapilara (Wildwood, 2006).

Eterično ulje ružmarina

Ružmarin (slika 1) je crnogorični grm iz porodice usnača (*Lamiaceae*) porijeklom iz Sredozemlja. Eterično ulje ružmarina dobiva se parnom destilacijom cvjetova. Ulje je blijedožute boje i snažnog mirisa. Djeluje stimulirajuće na živčani sustav, osvježava, olakšava stanja zabrinutosti i tjeskobe, djeluje kao afrodizijak te pospješuje misaone procese (Wildwood, 2006).



Slika 1. Ružmarin (*Rosmarinus officinalis*)

Eterično ulje cedra

Atlanski cedar (slika 2) ubrajamo u porodicu borova (*Pinaceae*). To je crnogorična četinjača koja potječe s gore Atlas u Alžiru i Maroku. Ulje se uglavnom proizvodi u Maroku i dobiva se parnom destilacijom iz drveta. Ulje je slatkog, drvenastog mirisa, a između ostalog koristi se za poticanje cirkulacije (Wildwood, 2006).



Slika 2. Atlanski cedar (*Cedrus atlantica*)

Eterično ulje slatke naranče

Slatka naranča (slika 3.) zimzeleno je drvo koje naraste do 10 metara i ima bijele mirisne cvjetove. Potječe iz Kine, a uzgaja se u cijelome svijetu jer se koristi u industriji voćnih sokova. Slatku naranču ubrajamo u porodicu *Rutaceae*. Ulje se dobiva hladnim prešanjem kore plodova i žućkasto-narančaste je boje. Najveći proizvođači eteričnog ulja su Kina, Indija, Cipar i SAD. Miris naranče razbuđuje i potiče dobro raspoloženje (Wildwood, 2006).

Slika 3. Slatka naranča (*Citrus sinensi*)

OBRAZLOŽENJE TEME

Pred kraj polugodišta pisale smo velik broj pisanih provjera znanja i bile smo iscrpljene, dekoncentrirane i umorne te nam je zbog toga bilo teže učiti i pamtit. Da bi nam se podigla koncentracija i poboljšalo pamćenje koristile smo stimulanse poput kave i različitih energetske pića. Upoznate smo s činjenicom da ti stimulansi imaju i donekle štetan učinak na naše zdravlje pa smo u potrazi za novom, zdravijom alternativom s istim učinkom pretraživale Internet. Otkrile smo neka eterična ulja za koja se smatra da pozitivno djeluju na naše zdravlje te poboljšavaju pamćenje i koncentraciju. Odlučile smo provesti istraživanje u kojem ćemo ispitati djeluju li uistinu ta eterična ulja na naše pamćenje i pamćenje naših vršnjaka. Također nas je zanimala usporedba učinka različitih eteričnih ulja na pamćenje. Za potrebe istraživanja izabrale smo tri eterična ulja za koja se tradicionalno smatra da su dobra za poboljšanje pamćenja i koncentracije. Ta ulja su lako dostupna, jednostavna za upotrebu i nisu skupa. Eterično ulje ružmarina aromaterapeuti navode kao sredstvo koje djeluje protiv stresa i iscrpljenosti, za cedar se smatra da potiče cirkulaciju i smanjuje stres, a za slatku naranču da djeluje protiv iscrpljenosti i ima simulirajući učinak na živčani sustav. Djelovanje ovih ulja na pamćenje provjerit ćemo testom kratkoročnog pamćenja. Zbog navedenih svojstava ta tri ulja naša je pretpostavka da će ispitanici koji su bili izloženi njihovom mirisu pokazati bolje rezultate na testu kratkoročnog pamćenja od kontrolne skupine koja nije bila izložena eteričnim uljima. Ulja korištena u istraživanju razlikuju se prema jačini mirisa. Pretpostavljamo da će ulje ružmarina koje se ubraja u eterična ulja jakog mirisa imati značajniji utjecaj na pamćenje od ulja slatke naranče koju ubrajamo u eterična ulja srednje jačine mirisa i od cedra, ulja iz kategorije slabih mirisa.

MATERIJAL I METODE RADA

U istraživanju je sudjelovalo 86 učenika prvih razreda naše škole. Nasumično su podijeljeni u četiri skupine: kontrolnu skupinu i tri eksperimentalne skupine, od kojih je svaka bila izložena različitim eteričnim uljima: cedru (*Cedrus atlantica*), ružmarinu (*Rosmarinus officinalis*) i ulju slatke naranče (*Citrus sinensis*). Sve tri eksperimentalne skupine bile su ispitivane u zasebnim učionicama, a u svakoj od njih bile su dvije lampice za sagorijevanje eteričnih ulja te u svakoj dvadeset kapi eteričnog ulja. Prva skupina bila je izložena eteričnome ulju slatke naranče, druga ružmarinu, a treća cedru. Kontrolna skupina nije bila izložena djelovanju eteričnih ulja. Za ispitivanje kratkoročnog pamćenja koristile smo listu od 20 konkretnih pojmova (tablica 1). Ispitanici su u učionici bili izloženi djelovanju eteričnih ulja 35 minuta te je svaki ispitanik dobio test kratkoročnog pamćenja s istim pojmovima. Imali su vrijeme od dvije minute da zapamte što više pojmova s liste. Nakon dvije minute odložili su listu s pojmovima. Sljedeći zadatak bio je da napišu što više pojmova kojih se sjećaju, bez obzira na



njihov redoslijed u testu. Za ovaj zadatak također su imali dvije minute. Da bi svi ispitanici bili u što sličnijim uvjetima, istraživanje je u svim skupinama provedeno u poslijepodnevnim satima, nakon nastave. Sakupile smo rezultate triju eksperimentalnih skupina i izračunale aritmetičku sredinu zapamćenih pojmova svake skupine te ju izrazile kao postotak zapamćenih pojmova. Isto smo učinile i za kontrolnu skupinu te smo usporedile rezultate svake od eksperimentalnih skupina međusobno i s kontrolnom skupinom. Zabilježile smo maksimalan i minimalan broj zapamćenih pojmova pojedinih ispitanika unutar skupina. Ovako obrađene podatke prikazale smo u obliku tablica i grafičkih prikaza.

Tablica 1. Lista 20 konkretnih pojmova za ispitivanje kratkoročnog pamćenja

drvo	trava	papir	brod
lopta	mobitel	kiša	prozor
banana	Sunce	otok	knjiga
bilježnica	ubrus	slovo	klupa
gljiva	krevet	nož	pas

REZULTATI

Djelovanje eteričnog ulja ružmarina na kratkoročno pamćenje

Eterično ulje ružmarina ispitale smo na 22 ispitanika. Svi su ispitani u istim uvjetima. Maksimalan broj zapamćenih pojmova pojedinog ispitanika iznosio je 20 pojmova odnosno 100%, a minimalan broj 11 pojmova odnosno 55% (tablica 2). Srednja vrijednost zapamćenih pojmova unutar ove eksperimentalne skupine iznosila je 73,9% pojmova odnosno 1,4 pojma više od ispitanika iz kontrolne skupine koji su zapamtili 67% pojmova.

Tablica 2. Broj i postotak zapamćenih pojmova pod utjecajem eteričnog ulja ružmarina.

Ispitanik	Broj zapamćenih pojmova	Postotak zapamćenih pojmova (%)	Ispitanik	Broj zapamćenih pojmova	Postotak zapamćenih pojmova (%)
1.	15	75	12.	13	65
2.	11	55	13.	20	100
3.	15	75	14.	19	85
4.	16	80	15.	16	80
5.	14	70	16.	16	80
6.	14	70	17.	19	95
7.	11	55	18.	17	85
8.	11	55	19.	17	85
9.	14	70	20.	15	75
10.	15	75	21.	12	60
11.	16	80	22.	11	55

Djelovanje eteričnog ulja cedra na kratkoročno pamćenje

Djelovanje eteričnog ulja cedra na pamćenje ispitano je na uzorku od 21 ispitanika. Maksimalan broj zapamćenih pojmova iznosio je 19, a minimalan 12 pojmova (tablica 3). Aritmetička sredina zapamćenih pojmova unutar ove skupine bila je 16 pojmova što iznosi 80% zapamćenih pojmova. Ispitanici izloženi djelovanju eteričnog ulja cedra u prosjeku su zapamtili su 2,5 pojma više od ispitanika kontrolne skupine.



Tablica 3. Broj i postotak zapamćenih pojmova pod utjecajem eteričnog ulja cedra

Ispitanik	Broj zapamćenih pojmova	Postotak zapamćenih pojmova (%)	Ispitanik	Broj zapamćenih pojmova	Postotak zapamćenih pojmova (%)
1.	18	90	12.	14	70
2.	12	60	13.	16	80
3.	17	85	14.	18	90
4.	15	75	15.	13	65
5.	16	80	16.	15	75
6.	15	75	17.	16	80
7.	18	90	18.	19	95
8.	18	90	19.	16	80
9.	19	95	20.	18	90
10.	12	60	21.	17	85
11.	14	70			

Djelovanje eteričnog ulja slatke naranče

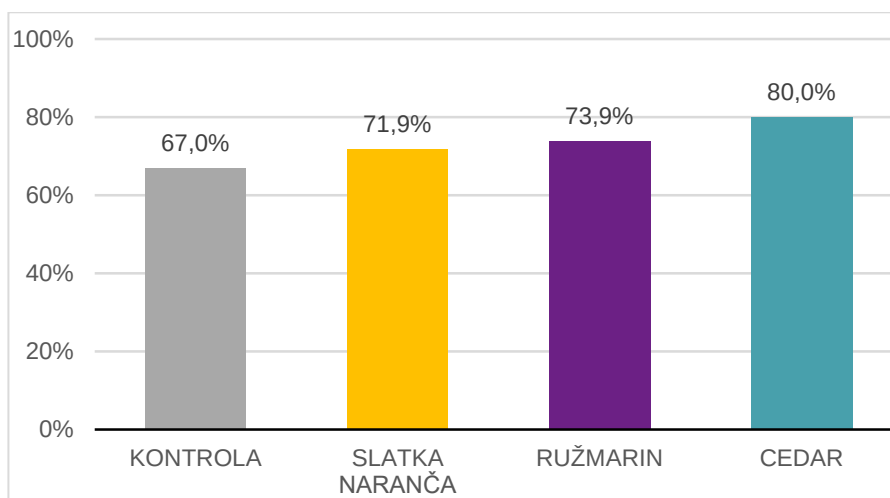
Eterično ulje slatke naranče ispitali smo na 23 ispitanika u istim uvjetima. Maksimalan broj zapamćenih pojmova iznosio je 18, a minimalan broj zapamćenih pojmova 10 (tablica 3). Srednja vrijednost zapamćenih pojmova ove skupine je 14,4 pojma što iznosi 71,9%. Ispitanici ove skupine zapamtili su 0,9 pojma više nego kontrolna skupina.

Tablica 4. Broj i postotak zapamćenih pojmova pod utjecajem eteričnog ulja slatke naranče

Ispitanik	Broj zapamćenih pojmova	Postotak zapamćenih pojmova (%)	Ispitanik	Broj zapamćenih pojmova	Postotak zapamćenih pojmova (%)
1.	15	75	12.	10	50
2.	16	80	13.	17	85
3.	11	55	14.	17	85
4.	17	85	15.	11	55
5.	13	65	16.	13	65
6.	13	65	17.	13	65
7.	15	75	18.	19	95
8.	17	85	19.	17	85
9.	10	50	20.	18	90
10.	13	65	21.	14	70
11.	14	70	22.	14	70

Usporedba djelovanja različitih vrsta eteričnih ulja na kratkoročno pamćenje

Usporedba postotaka zapamćenih pojmova pod djelovanjem različitih vrsta eteričnih ulja i kontrolne skupine prikazana je na slici 4.



Slika 4. Usporedba djelovanja triju vrsta eteričnih ulja na pamćenje

RASPRAVA

Cilj ovog istraživanja bio je provjeriti utjecaj pojedinih eteričnih ulja na kratkoročno pamćenje. Rezultati su potvrdili naše pretpostavke da eterična ulja imaju pozitivno djelovanje na kratkoročno pamćenje. Sve tri eksperimentalne skupine u prosjeku su zapamtile više pojmova od kontrolne skupine (slika 4). Najveći postotak zapamćenih pojmova bio je u skupini ispitanika izloženoj djelovanju eteričnog ulja cedra (80%), zatim u skupini pod utjecajem mirisa ružmarina (73,9%), dok su ispitanici izloženi mirisu slatke naranče zapamtili 71,9% pojmova što je također bolji rezultat od kontrolne skupine gdje su ispitanici zapamtili 67% pojmova. Eterična ulja korištena u ovome istraživanju razlikuju se po jačini mirisa. Naime eterična ulja se prema jačini mirisa dijele u četiri kategorije: izuzetno jaka, jaka, srednja i slaba. Naša pretpostavka da učinak ulja na pamćenje ovisi o intenzitetu njegova mirisa nije se pokazala točnom. Najbolji učinak na kratkoročno pamćenje pokazao se kod ulja cedra koje se svrstava u ulja sa slabim mirisom. Cedar je imao bolji učinak i od mirisa ružmarina koje se ubraja u ulja s jakim mirisom i od ulja slatke naranče koje se ubraja u ulja sa srednje jakim mirisom (slika 4). Broj zapamćenih pojmova pojedinačnih ispitanika unutar svake skupine je značajno varirao.

Najveća razlika u minimalnom i maksimalnom broju zapamćenih pojmova bila je kod kontrolne skupine ispitanika – od 9 do 20 zapamćenih pojmova. U skupini ispitanika izloženih djelovanju mirisa ružmarina broj zapamćenih pojmova kretao se od 11 do 20 (tablica 2). U skupini ispitanika izloženih mirisu cedra minimalan broj zapamćenih pojmova bio je 12, a maksimalan 19 (tablica 3). Kod slatke naranče razlika između najmanjeg i najvećeg broja zapamćenih pojmova iznosila je 8 pojmova (tablica 4). Ovo se može tumačiti kao posljedica individualnih razlika u sposobnosti kratkoročnog pamćenja, no može ovisiti i o drugim faktorima primjerice hrani koju su ispitanici konzumirali, količini sna noć prije ispitivanja te o samoj motivaciji za sudjelovanje u ispitivanju. Kako bismo izbjegli individualne razlike ispitanici su nasumično podijeljeni u skupine, a kako bismo što više smanjili utjecaj ostalih čimbenika na rezultate ovog ispitivanja pamćenja u svakoj skupini smo imali preko 20 ispitanika. U daljnjim istraživanjima provjerile bismo postoje li razlike u kratkoročnom pamćenju između spolova te postoji li razlika u djelovanju eteričnih ulja na dječake i djevojke.



ZAKLJUČCI

Eterična ulja ružmarina, cedra i slatke naranče imaju pozitivan učinak na kratkoročno pamćenje. Učinak eteričnog ulja na kratkoročno pamćenje ne ovisi o jačini njegova mirisa. Od tri ispitana eterična ulja najbolji učinak na kratkoročno pamćenje ima eterično ulje cedra. Eterična ulja ružmarina, cedra i slatke naranče mogu nam pomoći pri učenju kao zdravija alternativa energetske napitcima.

LITERATURA

S. A. Rathus: Temelji psihologije, Naklada Slap, Jastrebarsko 2000.

E. Wildwood: Aromaterapija, Aromateka, Zagreb 2007. <http://www.terra-organica.hr/cedar-atlaski-cedrus-atlantica-etericno-ulje.html>

UTJECAJ SIROVINA I TEMPERATURE FERMENTACIJE NA KISELO TIJESTO ZA KRUH

Lidia Vinković, 1.razred

Ana Vurušić, 1.razred

Ekonomska i trgovačka škola, Čakovec

Mentor: Željka Kadi

SAŽETAK

Ideja ovog rada bila je usporediti utjecaj dvaju originalnih, neovisno razvijanih *startera* kiselog tijesta, međimurskog i venecijanskog i istražiti utjecaj udjela uobičajenih sirovina kao što su *voda*, *šećer* i *sol*, te *temperaturnih uvjeta* vođenja na pokazatelje kvalitete tijesta za kruh. Tijesto je miješeno ručno i uzorkovano. Tijekom šest sati je u 6 x 81 seriji uzoraka opisno je praćen pokazatelj kvalitete tijesta - veličina zračnih komora tijesta, odn. *stabilnost tijesta* u razmacima od dva sata. Istovremeno je mjereno *porast volumena tijesta* je mjereno u čašama s volumnom podjelom na ml. Na prirast volumena najviše utječe porast temperature vođenja tijesta, a na veličinu i stabilnost zračnih komora veći udio šećera i soli, srednja vrijednost udjela vode i temperatura vođenja tijesta 27°C. Rezultati analize potvrdili su da su uzorci pripremljeni prema istoj recepturi koji se razlikuju samo po vrsti startera dali tijesto sličnih svojstava i time služe kao kontrola jedan drugome. Uzevši u obzir optimalni prirast volumena i stabilnost tijesta procijenjeno je da najpoželjnija svojstva tijestu daje 3% šećera, 3% soli i 61% vode (receptura br. 80). Suprotno očekivanju najstabilnije tijesto dobiveno je vođenjem na temperaturi +27°C. Neočekivan je nepovoljan utjecaj najvećeg udjela vode na stabilnost tijesta (krupne, neujednačene i nestabilne zračne komore) u završnoj fazi mjerenja u uzorcima s maksimalnim udjelom startera, šećera i soli. Dokazano je da nema razlika u svojstvima tijesta koja sadrže jednake udjele venecijanskog i međimurskog startera kiselog tijesta. Ispitani su i uvjeti očuvanja aktivnosti startera u uvjetima sniženih temperatura i dehidracije i dokazano je očuvanje aktivnosti mikroorganizama u hladnjaku, ledenici i dehidriranom obliku, ali je najveća aktivnost startera skladištenih u uvjetima hladnjaka na +8°C. Rezultati analize kvalitete tijesta obzirom na sirovine ukazali su na najpoželjnije recepture, među kojima su izabrane dvije koje daju najstabilnija tijesta. Jedna receptura s međimurskim starterom i jedna s venecijanskim starterom u tijestu osnova su za izradu kruhova korištenih u *organoleptičkom ocjenjivanju* pri čemu su ocjenjivani izgled, elastičnost, miris i okus kruha. Analizom rezultata organoleptičkog ocjenjivanja odabran je najkvalitetniji originalni proizvod, kruh- elastičan, bez mjehura, privlačnog osebujnog okusa i mirisa, izrađen prema recepturi br. B80 koja sadrži *venecijanski starter* kiselog tijesta. Suprotno očekivanju ocjenjivači u Ekonomskoj i trgovačkoj školi Čakovec većinski zastupaju mišljenje da upravo hrskava, lagano raspukla kora osebujne arome prihvatljiv defekt jer kruhu daje posebno privlačan izgled, okus i miris. U ocjenjivanju se presudnim pokazao okus kruha.

ključne riječi: *kiselost tijesta, temperaturni uvjeti, stabilnost*

UVOD

Sirovine i uvjeti vođenja kiselog tijesta za kruh

Kisela tijesta ubrajaju se među najstarija sredstva pomoću kojih se razrahljuju tijesta. Osnovne sirovine za krušno tijesto od davnina su brašno, šećer, sol i voda, te sredstvo za rahljenje tijesta. Prema povijesnim nalazima već su stari Egipćani, poznavali spontano ukiseljeno tijesto s kojim su pripremali kruh. U rimskoj provinciji Germaniji u to se vrijeme proizvodio kruh kao nezakiseljena tvrda pogača iz brašna i vode, beskvasni kruh. Veliki značaj kiselog tijesta za stare Egipćane potvrđuje mit braći Anupu i Bati : „ No osveti im se Ra. Baš kad je sječivo udarilo, iz rane šiknu kapljica krvi i pretvori se u kuglicu uskisa tijesta koju preljubnica proguta, budući da nije stigla na vrijeme zatvoriti usta. A tijesto u njenoj utrobi nabuja, ispeče se u zlatnu sunčevu pogaču i rodi zla žena božanskog sina.“ (Barbieri, 2013.). U povijesti čovječanstava kruh od kiselog tijesta ima neprocjenjivu, božansku vrijednost, gotovo zaboravljenu do početka 21. st. u našim krajevima. Prirodno kiselo tijesto nastaje spontanom rastom mikroflore brašna, u kojem se može naći do 70 vrsta bakterija i 10 sojeva kvasaca (Soupiron, 2010). Najprisutnije su bakterije mliječno kiselog vrenja roda *Lactobacillus* koje



ugljikohidrate iz pšeničnog brašna prerađuju u mliječnu i octenu kiselinu i aromatične spojeve. Zakiseljavanjem tijesta povećava se mogućnost vezanja vode iz škroba i bjelančevina, sprječava se razgradnja škroba pomoću amilaze, a time se jače povezuje tijesto i poboljšava se zadržavanje plina u tijestu. Posljedica je stvaranje stabilne, čvrste i rezive sredine proizvoda. U kiselom tijestu najprisutniji su kvasci roda *Saccharomyces*, ali ima i drugih iz rodova *Candida*, *Pichia* i *Turulopsis* (Soupiron, 2010). Aktivnošću kvasaca iz ugljikohidrata brašna nastaje glukoza koja potom dalje fermentira, dajući etanol i ugljični dioksid. U pekarama se starter ili cjepivo nekog kiselog tijesta uzima od zrelog tijesta ili iz čiste kulture mikroorganizama uzgojenih u laboratoriju i dalje razmnožavanih u tijestu (Albrecht, 2010.). Kod proizvodnje kvasca u vlastitom pogonu kvasci iz prirodne baze kiselog tijesta tek u završnoj fazi fermentacije postižu optimalnu snagu pa je potrebno dati prednost hladnom i produženom vođenju tijesta, odnosno fermentaciji u kontroliranim uvjetima (Albrecht, 2010.). Znalci su dio dobrog kiselog tijesta uvijek čuvali za sljedeći zamjes kruha. Kada kvašćeve gljivice i bakterije mliječnog vrenja ostanu bez hrane i vode, u nepovoljnim uvjetima štite se stvaranjem spora. Te spore mogu u odgovarajućim uvjetima ponovno oživjeti. Kiselo tijesto za kruh je omiljeno u Italiji gdje ga zovu „pasta madre“. U Međimurju su sjećanja na kruh od kiselog tijesta, koje su naši stari jednostavno zvali kvas, gotovo su u potpunosti nestala. Kiseline u kruhu čine ga trajnijim, pa bi njegova prisutnost na tržištu umanjila količine bačenog kruha (Đukes, 2014.). Zadatak struke i znanosti je revitalizirati posebno značenje kruha u ljudskoj prehrani i vratiti svojstva kruha izgubljena u modernizaciji proizvodnog procesa (Novotni i Mrvčić, 2013.) Od pekare do pekare, proizvode se pšenična tijesta različite čvrstoće. Čvrstoća ovisi, prije svega o odnosu brašna i vode. Broj koji izražava odnos brašno : voda je randman tijesta, a brašno višeg tipa može vezati više vode. U vrijeme procesa miješenja tijestu se kontinuirano dodaje voda sve dok se ne postigne optimalna konzistencija pri čemu se bjelančevine glijadin i glutenin od kojih se sastoji gluten međusobno povezuju i bubre u ljepak. Šećer je hrana kvascima i posješuje fermentaciju. Tijesta bez šećera ili s malim udjelom šećera su čvrsta i suha jer kvasac može fermentirati samo glukozu i maltozu koje se prirodno nalaze u brašnu. Kuhinjska sol povećava sposobnost bubrenja bjelančevina. Na taj se način omogućuje bolje vezanje vode. Povećanjem količine soli dobiva se stabilnije i elastičnije tijesto. Tijesta bez soli su slabije povezana i na površini izgledaju suha. Sol također utječe i na djelovanje kvasaca pri fermentaciji. Povećanjem količine soli usporava se fermentacija čime se povećava ljepljivost tijesta i sposobnost zadržavanja plinova. Pečenom kruhu sol daje tamniju boju kore, stabilniju sredinu i bolji okus. Poželjna svojstva krušnog tijesta su stabilnost (ujednačenost zračnih komora) i mogućnost zadržavanja plina (porast volumena). U industrijskim tehnološkim laboratorijima tijesto se prati uređajima kao što je ekstenzograf (mjerenje rastezljivosti) i farinograf (mjerenje stabilnosti, omekšanja i vremena razvoja tijesta). Za upoznavanje promjena tijesta ipak je poželjno da ispitivači imaju iskustvo ručne izrade tijesta (Albrecht, 2010.).

Ocjenjivanje svojstava kruha

Organoleptička ispitivanja prehrambenih proizvoda su ispitivanja prehrambenih proizvoda kod kojih se koriste ljudska osjetila za procjenu senzorskih karakteristika namirnice. Te su karakteristike izgled, boja, opip, konzistencija, miris i okus. Kod izbora organoleptičara potrebna je provjera osjetljivosti njihovih papila na osnovne okuse. Ispitivanje se može provoditi s izobraženim i neizobraženim ispitivačima. U praksi se koristi najmanje 40 neizobraženih ispitivača kako bi se dobili pouzdani rezultati (Filajdić, 1993.). Kakvoća kruha ocjenjuje se organoleptički dvanaest sati nakon pečenja.



Probno pečenje kruha je najmjerodavnija metoda ocjenjivanja pecivih svojstava tijesta i ne može ga u potpunosti zamijeniti niti jedna instrumentalna metoda (Ugračić-Hardi Ž. i sur, 2002.). Ocjenjuju se sljedeća svojstva kruha: volumen i vanjski izgled kruha, izgled sredine, miris kore i sredine i okus kore i sredine. Kakvoća osnovnih vrsta pšeničnog kruha određuje se sistemom ponderiranih bodova, koji se dobivaju kao produkt ocjena i faktora značajnosti (Ugračić-Hardi. Ž. i sur, 2002.). Neprihvatljivim defektima u kontroli kvalitete u prehrambenoj industriji smatraju se oni nedostaci koji su neprihvatljivi za potrošača, bilo sa stajališta zaštite njegovog zdravlja, bilo sa stajališta njegovih ekonomskih interesa. Prihvatljivim defektima smatraju se oni nedostaci karakteristika proizvoda koji se mogu pod određenim uvjetima prihvatiti od strane proizvođača (Filajdić, 1993.).

OBRAZLOŽENJE TEME

Kruh se od davnina ubraja među najvažnije živežne namirnice. Proizvodi se iz krušnih žitarica i vode, a tijesto raste djelovanjem mikroorganizama (biološko dizanje). Jedan od načina podizanja tijesta je dodatak kiselog startera u brašno, čime se dobiva kiselo tijesto čije bakterije mliječno kiselog vrenja, kao i kvasci koji izazivaju fermentaciju. Kao osnova za dobivanje kiselog tijesta mogu poslužiti spontano dobiveni starteri kiselog tijesta kakvi su korišteni u ovom radu. Dosadašnjim učeničkim istraživanjem trajnosti kiselog kruha (Đukes, 2014.) dokazali smo da je kiseli kruh trajniji od kruha izrađenog s pivskim kvascem koji je najčešći na tržištu, što je dodatni motiv za nastavak istraživanja o recepturi koja će dati kvalitetan kruh prema standardima pekarske struke. Učenice smo strukovne škole u sektoru Ekonomije i trgovine. Za nas je vrlo motivirajuće provesti istraživanje koje će rezultirati recepturom za kiseli kruh produljene svježine i originalne arome kojeg na tržištu gotovo nema (usmeni izvor, tehnolozi dviju najvećih regionalnih pekara; Čakovečki mlinovi i Latica).

Cilj rada je utvrditi učinak procesnih varijabli na uspješnost vođenja kiselog tijesta različitog podrijetla i organoleptičkim ispitivanjima konačnog proizvoda (kruha) procijeniti kvalitetu tijesta za kruh izrađenog prema dvije recepture, odnosno iz dva startera- tipa A i tipa B. Jedinstven sastav mikroflore svakog spontano razvijenog kiselog tijesta uzrokuje tipični, originalni okus kruha i peciva (Bode i sur., 2007.). Objektivnost ispitivanja postići će se planom pokusa, statističkom interpretacijom korelacije rezultata i srednjom ocjenom senzorskih rezultata ispitivanja.

U skladu s postavljenim ciljevima istraživanja, hipoteze su sljedeće:

- ❖ udio sirovina (kiseli starteri tip A i tip B različitog podrijetla, voda, sol, šećer) i temperatura fermentacije uzrokovat će promjene volumena tijesta i stabilnosti fermentiranog tijesta te ukazati na parametre koji najpovoljnije utječu na kvalitetu tijesta,
- ❖ istraživanje utjecaja uvjeta čuvanja startera kiselog tijesta na njegovu aktivnost pokazat će najbolje uvjete za očuvanje aktivnosti startera kiselog tijesta (hladnjak, ledenica ili dehidrirani oblik na sobnoj temperaturi),
- ❖ ocjenjivanje svojstava kruha izrađenog prema dvije najuspjelije recepture za kiselo tijesto dat će originalni proizvod – kiseli kruh najpoželjnijih svojstava elastični kruh, bez mjehura i pukotina, osebujnog okusa i mirisa)

MATERIJAL I METODE RADA

Sirovine za pripremu kiselog tijesta

Za pripremu kiselih tijesta za ovo istraživanje korištene su sljedeće sirovine: pšenično brašno TIP 1100, voda, kuhinjski šećer, morska sol, starter kiselog tijesta: TIP A - originalni starter kiselog tijesta



korišten u prošlogodišnjem istraživačkom radu učenika naše škole, TIP B – originalni starter kiselog tijesta iz domaćinstva iz okolice Venecije.

Ispitivanje utjecaja odabranih parametara na aktivnost kiselog tijesta

U procesu fermentacije tijesta praćen je utjecaj vrste i količine dodanog startera kiselog tijesta, količine šećera, soli i vode. 81 uzorak tijesta sa svakim od dva startera vođen je na tri različite temperature tijesta tijekom 6 sati do udvostručenja volumena tijesta. Za određivanje mase sirovina korištena je digitalna kuhinjska vaga preciznosti 1 g, a za temperaturu tople kupelji laboratorijski termometar. Jedinične vrijednosti sastojaka određene su prema 1 kg brašna (tablica 1.). Tijesto je miješeno ručno.

Tablica 1. Procesne varijable, njihov raspon i kodirane varijable

Naziv varijable	Oznaka varijable	Jedinica	Min. vrijednost	Max. vrijednost	Kodirana min. vrijednost	Kodirana max. vrijednost	Centralna točka
starter kiselog tijesta A	Faktor F1A	%	10,0	30,0	+1	-1	20,0
starter kiselog tijesta B	Faktor F1B	%	10,0	30,0	+1	-1	20,0
šećer	Faktor 2: D	%	1,0	3,0	+1	-1	2,0
sol	Faktor 3: E	%	1,0	3,0	+1	-1	2,0
voda	Faktor 4: C	%	58,0	64,0	+1	-1	55,00
temperatura	Faktor 5: F	°C	20,0	34,0	+1	-1	27,00

Uzorci od 200 ml svakog tijesta ostavljeni su fermentirati u čašama od 600 ml te je nakon svaka 2 sata odmaranja na određenoj temperaturi mjeren volumen tijesta i zabilježen u tablice (Prilog 1.-6.). U isto vrijeme je promatranjem procijenjena veličina zračnih komora u tijestu (sitne, srednje, krupne i ujednačene ili nejednake), što je odgovarajućom bojom prema legendi bilježeno u tablice rezultata (Prilog 1-6.). Za određivanje interakcije neovisnih parametara na odgovor, promjenu volumena tijesta, korištena je metoda Response Surface (Novotni, 2007.), RSM (tablica 2.).

Tablica 2. Plan određivanja utjecaja neovisnih parametara na VER

Mjerenje	Faktor 1A kisel starter A %	Faktor 1B kisel starter B %	Faktor 2 šećer %	Faktor 3 sol %	Faktor 4 voda %	Faktor 5 temperat. °C	VER
1.	10/20/30	10/20/30	1	1	58	20/27/34	/ / /
2.	10/20/30	10/20/30	1	2	58	20/27/34	/ / /
3.	10/20/30	10/20/30	1	3	58	20/27/34	/ / /
4.	10/20/30	10/20/30	2	1	58	20/27/34	/ / /
5.	10/20/30	10/20/30	3	1	58	20/27/34	/ / /
6.	10/20/30	10/20/30	2	2	58	20/27/34	/ / /
7.	10/20/30	10/20/30	2	3	58	20/27/34	/ / /
8.	10/20/30	10/20/30	3	3	58	20/27/34	/ / /
9.	10/20/30	10/20/30	1	1	58	20/27/34	/ / /
10.	10/20/30	10/20/30	1	2	58	20/27/34	/ / /
11.	10/20/30	10/20/30	1	3	61	20/27/34	/ / /
12.	10/20/30	10/20/30	2	1	61	20/27/34	/ / /
13.	10/20/30	10/20/30	3	1	61	20/27/34	/ / /
14.	10/20/30	10/20/30	2	2	61	20/27/34	/ / /
15..	10/20/30	10/20/30	2	3	61	20/27/34	/ / /
16	10/20/30	10/20/30	3	3	61	20/27/34	/ / /
17.	10/20/30	10/20/30	1	1	61	20/27/34	/ / /
18.	10/20/30	10/20/30	1	2	61	20/27/34	/ / /
19.	10/20/30	10/20/30	1	3	64	20/27/34	/ / /
20.	10/20/30	10/20/30	2	1	64	20/27/34	/ / /
21.	10/20/30	10/20/30	3	1	64	20/27/34	/ / /
22.	10/20/30	10/20/30	2	2	64	20/27/34	/ / /
23.....	10/20/30	10/20/30	3	3	64	20/27/34	/ / /



Porast volumena (VER) izračunat je prema formuli:

$$VER = \frac{V_t - V_0}{V_0}$$

gdje je: V_t volumen u vremenu t (ml), V_0 početni volumen (ml).

Djelovanje niskih temperatura i dehidracije na očuvanje aktivnosti kiselog tijesta

Kako bi se utvrdili najpovoljniji uvjeti čuvanja aktivnosti startera kiselog tijesta na kraju fermentacije iz odabranog najuspjelijeg kiselog tijesta izdvojena su 3 x 3 uzorka tijesta s oba startera. Po tri su uzorka ostavljena u plastičnim posudama na temperaturi + 8 °C u hladnjaku, na temperaturi - 12 °C u ledenici, a tri su uzorka osušena i ostavljena u uvjetima sobne temperature. Nakon sedam dana svaki je starter kiselog tijesta ponovno aktiviran dodatkom jednakih udjela brašna, šećera i vode. Zabilježeno je vrijeme pojavljivanja prvih mjehura na starteru kao dokaz aktiviranja mikroorganizama i vrijeme udvostručenja volumena startera.

Ocjenjivanje svojstava kruha

Umiješene su tri put po dvije vrste tijesta prema dvije recepture koje daju tijesto najpoželjnijih karakteristika. Omjeri sastojaka prilagođeni su 1 kg brašna. Tijesto je ostavljeno fermentirati 6 sati na sobnoj temperaturi i ispečeno je u kalupima na

200 °C jedan sat. Kakvoća kruha ocjenjena je organoleptički 12 sati nakon pečenja. Kod četrdeset needuciranih organoleptičara provjerena je osjetljivost papila na osnovne okuse (slanost otopinom soli, slatkost otopinom šećera, kiselost otopinom limunske kiseline i gorkost otopinom kofeina). Osjetljivost na mirise testirana je mirisom češnjaka, naranči, čokolade, kruha. Ispitivanje je provedeno u svjetloj i zračnoj prostoriji, a ispitivači su izolirani boksovima. Za odmor papila na jeziku korištena je pitka voda. Temperatura uzorka je identična temperaturi uobičajene konzumacije proizvoda. Pri ocjenjivanju vrednovane su ove značajke: volumen kruha, vanjski izgled kruha, izgled sredine, miris kore i sredine, okus kore i sredine i elastičnost sredine kruha (Prilog; tablica 6.). Kvaliteta kruha određena je prema sistemu ponderiranih bodova. Za svako svojstvo dana je ocjena pojedinačno u 5 gradacija, od 1-5. Množenjem pojedinačne ocjene s koeficijentom važnosti za svako svojstvo kvalitete dobiva se ukupna ocjena kvalitete proizvoda. Ocjenjivanje volumena provodi se mjerenje duljine i širine proizvoda centimetarskom vrpcom koje množenjem daju podatak za ocjenu volumena. Izvrsnim se za crni kruh mase od 1 kg od brašna tipa 1100 smatra kruh volumena više od 3 200 cm². U ocjenjivanju vanjskog izgleda kruha izvrsnim (ocjena 5) se smatra pravilan oblik, ujednačena boja i sjaj svojstveni tipu kruha, kruh bez mjehura i pukotina. Pojava pukotina ocjenjuje se sa zadovoljava (ocjena 2). U ocjenjivanju izgleda sredine izvrsnim se smatra sredina potpuno povezana s korom, odlične elastičnosti, nije gnjecava, dobro je ispečena, bez grudica soli i brašna. Izvrstan je miris vrlo izražen i svojstven vrsti kruha. Izvrsnim se ocjenjuje vrlo izražen okus, ugodan, svojstven vrsti kruha, kora koja nije žilava i sredina koja se ne lijepi i ne mrvi (prema Pravilniku o kvaliteti žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, tjestenine i brzo smrznutih tijesta (Sl. list 53/83. g. NN 53/91.g)).

Statističke metode analize rezultata

Za analizu i prikaz podataka korišten je Excel 2013. Vrijednosti uzorka uspoređene su Studentovim t-testom.



REZULTATI

Ispitivanje utjecaja odabranih parametara na aktivnost kiselog tijesta

Rezultati predstavljaju vrijednost prirasta volumena (VER) u šest zasebnih serija mjerenja na 81 uzorku (slika 1). Mjerenje pH uzoraka tijesta br. A 76 i B76. je 5, za razliku od tijesta s najmanjim udjelom kiselog startera (tijesto br. A26. i B26) gdje je pH 6. Pojedinačni rezultati prirasta u broju članaka detaljno su bilježeni i analizirani.

Vrijednosti uzorka uspoređene su Studentovim t-testom.

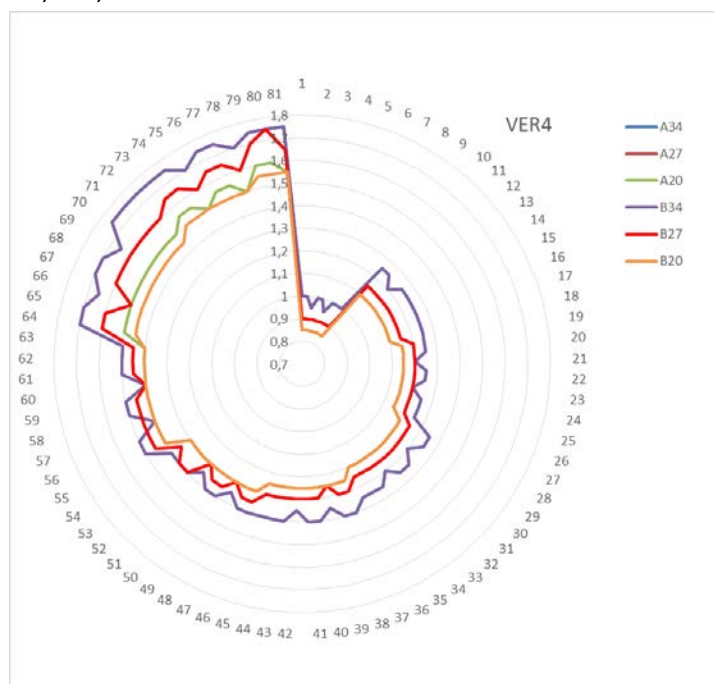
Dobivene vrijednosti A27 i B27 se uz iste uvjete podudaraju (slika 2 i 3.).

Dobivene vrijednosti A34 i B34 se uz iste uvjete podudaraju (slika 2. i 3.).

Razlika u odnosu na starter uočena je samo na temperaturi 20°C (slika 2. i 32.). Sitne zračne komore pojavljuju se u tijestu sa starterom A u mjerjenjima br. 18-81 (10% startera A, 3% šećera i 1% soli). Sitne zračne komore pojavljuju se u tijestu sa starterom B u mjerjenjima br. 45-81 (20% startera B, 3% šećera i 1 % soli).

Postoji statistički značajna razlika u volumenu tijesta ovisno o temperaturi, ali ne i ovisno starteru (t-test, $t=-3.99, p<0.05$). Veći volumen dobit će se pri većoj temperaturi. Na porast volumena uglavnom ne utječe količina vode. Samo pri većem porastu volumena uočena je promjena volumena (na manje).

Na promjenu volumena utječe količina šećera, a volumen se ne mijenja uz promjenu količine soli. Količina soli i vode utječe na stabilnost zračnih komora. Mjerenja br. A66., A75. i A77. ukazuju na pojavu krupnih neujednačenih komora u uzorcima s udjelom vode 3%. Isti rezultati utjecaja vode na pojavu krupnih neujednačenih zračnih komora su vidljivi u svih 6 tablica mjerenja. Stabilne zračne komore srednje veličine vidljive su u uzorcima A i B na vođenim na temperaturi 27°C, pri udjelu startera 30%, šećera 35, soli, 3% i vode 61%.

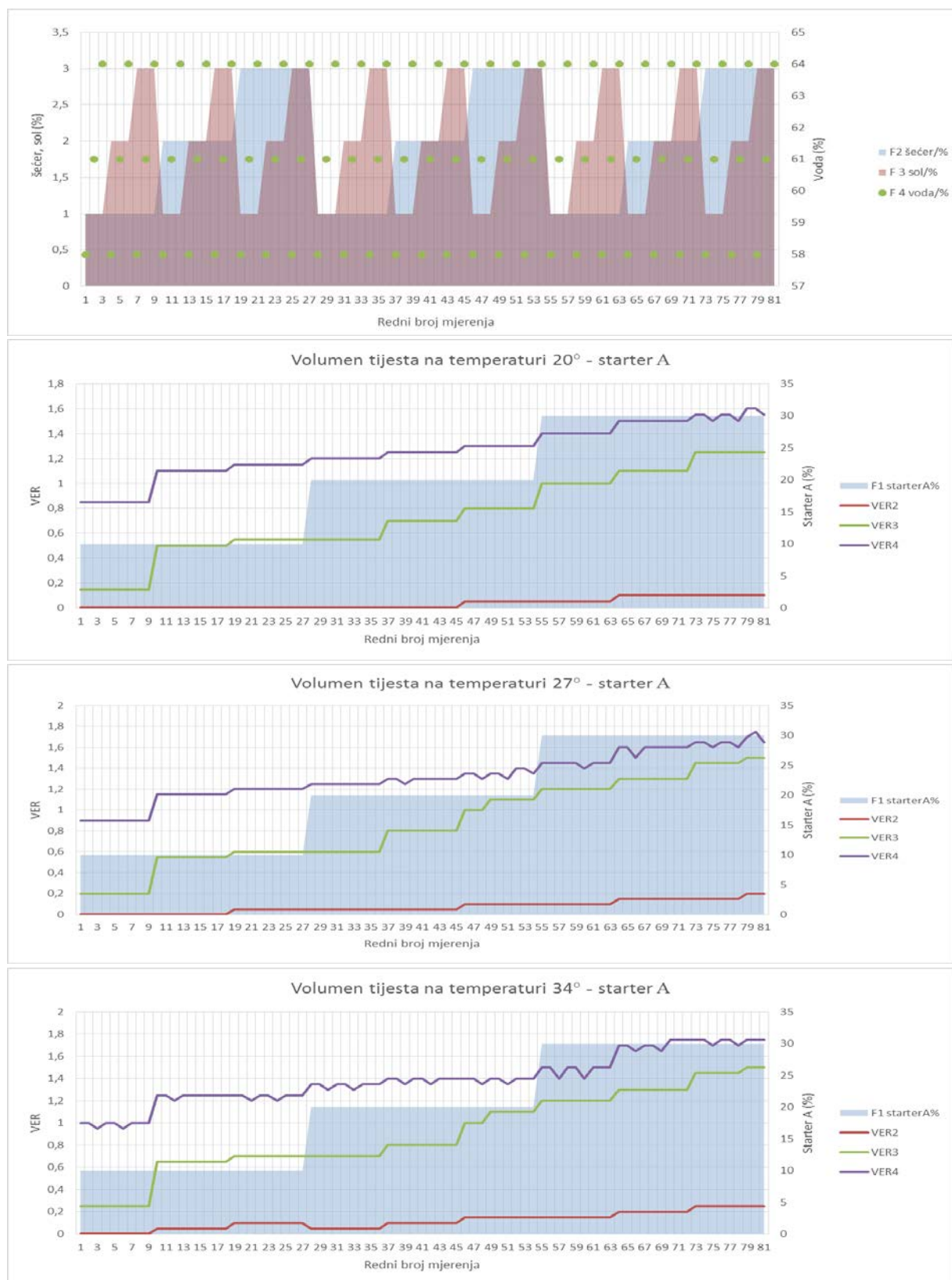


Slika 1: Usporedba volumena (VER4) ovisno o starteru i temperaturi



Utjecaj sirovina i temperature fermentacije Na kiselo tijesto za kruh

Mentor:
Kadi Ž.



Slika 2: Porast volumena tijesta (VER) primjenom startera A ovisno o temperaturi/usporedba s količinom soli, šećera i vode



Utjecaj sirovina i temperature fermentacije Na kiselo tijesto za kruh

Mentor:
Kadi Ž.



Slika 3: Porast volumena tijesta (VER) primjenom startera B ovisno o temperaturi/usporedba s količinom soli, šećera i vode



Djelovanje niskih temperatura i dehidracije na očuvanje aktivnosti kiselog startera

Rezultati promatranja pojavljivanja zračnih mjehura i udvostručenja volumena startera u uvjetima na $+8^{\circ}\text{C}$ i -12°C , te u dehidriranom obliku pokazuju najraniju pojavu zračnih mjehura u oba startera čuvana na $+8^{\circ}\text{C}$, nakon 30 minuta. U istim je uzorcima udvostručenje volumena nastupilo nakon četiri sata. Najduži vremenski odmak u pojavljivanju zračnih komora prisutan je u starteru čuvanom na -12°C , nakon 160 minuta, dok udvostručenje volumena nastupa nakon 48 sati (tablica 3.).

Tablica 3. Period aktivacije kiselog startera

Uvjeti čuvanja startera	Hladnjak $+8^{\circ}\text{C}$		Ledena -12°C		Dehidrirano stanje $+20^{\circ}\text{C}$	
Tip startera	A	B	A	B	A	B
pojava mjehurića	30 min	30 min	160min	155min	120 min	120 min
udvostručenje volumena	4 h	4 h	48 h	48 h	24 h	24 h

Ocjenjivanje svojstava kruha

Rezultati organoleptičkog ocjenjivanja predstavljaju srednju vrijednost ocjena četrdeset ocjenjivača koji su ocijenili dvije vrste kruha (kruh prema recepturi A 80 i kruh prema recepturi B80). Kruh sa starterom A ocijenjen je srednjom ocjenom 20,25 odn. s 80,09 bodova, (tablica 4.) a kruh sa starterom B dobio je srednju ocjenu 21,68, odn. s 86,70 bodova, (Tablica 5.). Usmeni komentar učenika je da je kruh sa starterom A prekiseo, te da im je posebno ukusna hrskava korica oba kruha.

Tablica 4. srednja ocjena kruha – starter A

Oznaka uzorka/receptura br.	A 80		
Masa uzorka	1 kg		
Svojstva kvalitete	Koeficijent važnosti	Srednja ocjena 1 - 5	Broj bodova
Volumen	4	5	20
Vanjski izgled	3	4,18	12,54
Izgled sredine	5	3,90	19,50
Miris kore i sredine	3	3,90	11,70
Okus kore i sredine	5	3,27	16,35
Zbroj bodova	20	20,25	80,09

Tablica 5. srednja ocjena kruha – starter B

Oznaka uzorka/receptura br.	B 80		
Masa uzorka	1 kg		
Svojstva kvalitete	Koeficijent važnosti	Srednja ocjena 1 - 5	Broj bodova
Volumen	4	5	20
Vanjski izgled	3	4,39	13,17
Izgled sredine	5	4,27	21,35
Miris kore i sredine	3	3,96	11,88
Okus kore i sredine	5	4,06	20,30
Zbroj bodova	20	21,68	86,70

RASPRAVA

Načinjena je analiza utjecaja osnovnih sirovina, nezavisnih parametara na svojstva kiselog tijesta s ciljem uspoređivanja tijesta sa starterom A i starterom B neovisnog podrijetla mikroflore i djelovanja tri temperature na vođenje tijesta. Analizom rezultata utvrđeno je da su parametri koji najviše



pridonose porastu volumena tijesta porast temperature i povećanje udjela startera. Toj spoznaji prilagođen je statistički i grafički prikaz rezultata. Usporedbom dobivenih rezultata može se uočiti da se najpoželjnija svojstva tijesta kao što je srednja veličina i ujednačenost pora, uz optimalni prirast volumena, dobivaju dodatkom najveće određene mase kiselog startera u tijesto za kruh (mjerjenje A80 i B80 na 27°C). pH uzorka tijesta s najvećim udjelima oba startera, šećera i soli (mjerjenje br.76.) je 5, za razliku od tijesta s najmanjim udjelom kiselog startera (mjerjenje A26. i B26), gdje je pH 6. Ovaj rezultat odgovara rezultatima koje u svom radu iznosi Albrecht (2010.) koji navodi da se zakiseljavanjem tijesta povećava mogućnost vezanja vode i škroba, kao i bjelančevina, sprječava se razgradnja škroba pomoću amilaze, a time se jače povezuje tijesto i poboljšava se zadržavanje plina u tijestu. Što je veća koncentracija kiseline u tijestu fermentacija se odvija sporije jer niži pH usporava djelovanje kvasaca na bujanje tijesta. Uspoređujući djelovanje startera A i B na tijesta nije primijećena značajna razlika u prirastu volumena i svojstvima tijesta. Ovaj rezultat je moguće objasniti time da i međimurski i venecijanski starter imaju podjednako aktivnu mikrofloru, bez obzira na neovisno podrijetlo i različite uvjete kojima su bili izloženi u prethodnom obnavljanju. Ta ujednačenost rezultata upućuje na to da dvije skupine tijesta (sa starterom A i B) postaju kontrolni uzorci u paralelnim mjerjenjima s istim ostalim sirovinama i temperaturi, te potvrđuju objektivnost mjerenja. Uspoređujući tijesta obzirom na udio šećera uočena je najveća ujednačenost pora, stabilnost i porast volumena tijesta s najvećom vrijednosti šećera. Rezultati su u skladu s literaturom, prema Albrechtu (2010.) su tijesta s malim udjelom šećera čvrsta jer kvasac može fermentirati samo glukozu i maltozu koje se prirodno nalaze u brašnu, dok su tijesta s najvećim udjelom šećera rastezljiva, ali kod prevelikog udjela šećera u odnosu na potrošače mikroorganizme zračne komore se naknadno opuštaju, bez stabilne strukture (venecijanski starter mjerjenje br.20., 48.,51.,57.,60.,66.,69., 75. i 78.), (Prilozi). Uspoređivanje tijesta s obzirom na udio soli također odgovara radovima istog autora, koji navodi utjecaj soli na bubrenje bjelančevina čime se dobiva elastičnije i stabilnije tijesto. Uočeno je da povećanje udjela soli usporava fermentaciju čime se povećava ljepljivost tijesta i sposobnost zadržavanja plinova jer je sol usporila djelovanje kvasaca pri fermentaciji.

No, zanimljivo je da rezultati ukazuju na povoljan utjecaj hladnog vođenja tijesta kojim se formira tijesto srednje rastezljivosti koje tek u završnoj fazi postaje mekano uz formiranje srednjih i ujednačenih zračnih komora i vrlo je stabilno. Iako je prema Albrechtu (2010.) temperaturu od 34°C najpovoljnija za aktivnost mikroflora kvasaca, rezultati ukazuju na problem preintenzivne fermentacije na toj temperaturi rezultat čega je nagli prirast volumena s neujednačenim krupnim zračnim komorama koje na kraju mjerenja smanjuju sposobnost zadržavanja plinova. Stabilne zračne komore i optimalni prirast volumena dobiveni su na temperaturi 27 °C (mjerjenje br.A80 i br.B80).

Manjkavost ovog istraživanja u usporedbi s metodologijom i aparaturom koja se koristi u pekarskim tehnološkim laboratorijima s uređajima kao što je ekstenzograf (mjerjenje rastezljivosti) i farinograf (mjerjenje stabilnosti, omekšanja i vremena razvoja tijesta) je jasna. Prema Albrechtu (2010) za upoznavanje promjena tijesta, ipak, je poželjno da ispitivači početnici imaju iskustvo ručne izrade tijesta. Složenost postupaka pripreme i promatranja svojstava tijesta na brojnim uzorcima u skladu s metodologijom prehrambene tehnologije opravdana je rezultatima čijom analizom možemo uočiti posljedice interakcije sirovina na određenoj temperaturi. Tako je moguće izdvojiti mjerenje koje daje recepturu za tijesto s ujednačenim stabilnim komorama i zadovoljavajućim prirastom volumena kao pokazateljima buduće kvalitete finalnog proizvoda – kruha. Kao najuspjelije odabrane su receptura



br. 80 sa starterom A i receptura 80 sa starterom B. Te su recepture korištene za vođenje tijesta za kruhove koji su ocjenjivani..

Aktivnost startera kiselog tijesta moguće je očuvati u sva tri odabrana uvjeta Najbolje je očuvana na temperaturi od 8°C u hladnjaku, a sporo se aktivira zamrznuti i dehidrirani starter.

Analiza rada ocjenjivača organoleptičara dovela nas je do naše najuspjelije „sunčeve pogače“ kruha izrađenog prema recepturi : B80 , koja sadrži venecijanski kiseli starter. Zanimljivo je da su svojstva kore, volumena i zračnih komora ocjenjena ujednačeno za kruhove s oba startera. Analiza rezultata Ocjenjivanje kore kruha daje protivno očekivanju dobiva visoku srednju ocjenu (4,39). Pretpostavljamo da ocjenjivači nisu prilagodili kriterije ocjenjivanju u modernom tehnološkom procesu, u kojem se kruh proizvodi uz određene aditive i koncentraciju vodene pare u komori za pečenje, koja u našem slučaju nije korištena. Smatramo da je ocjenjivanje kruha potrebno je prilagoditi specifičnim svojstvima kruha od kiselog tijesta s crnim brašnom koji ne pokazuje svojstva tehnološki poželjne tanke kore, a ocjenjivači u Ekonomskoj i trgovačkoj školi većinski zastupaju mišljenje da upravo hrskava, lagano raspukla kora osebujne arome daje posebnu vrijednost kruhu, što je u skladu s preporukama tehnologa Filajdića (1993.) o prihvatljivim defektima pekarskih proizvoda. Potrebno je u proizvodnju kruha vratiti svojstva kruha izgubljena u modernizaciji proizvodnog procesa kao što navodi Novotni (2013.). U svim ocjenjivanim svojstvima kruh s venecijanskim starterom ocijenjen je dobiva boljim ocjenama, osim u ocjeni volumena koji je zbog istog kalupa i aktivnosti tijesta jednak.

Svojstvo koje je donijelo konačnu značajnu razliku u srednjoj ocjeni kruha A i B je okus kore i sredine. Pobjednička je „sunčeva pogača“ umiješana s venecijanskim starterom, brašnom, 3% šećera i soli, 61% vode na temperaturi 27°C. Osebujan okus kruha pokazao se presudnim u visini broja bodova venecijanskog kruha koji iznosi 86,7, za razliku od međimurskog s 80,09 bodova.

ZAKLJUČCI

Cilj rada je utvrditi učinak udjela sirovina kiselog tijesta; dviju startera kiselog tijesta različitog podrijetla, udjela šećera, soli i vode te temperaturnih uvjeta vođenja tijesta na pokazatelje kvalitete tijesta za kruh. Ispitani su i uvjeti očuvanja aktivnosti baza kiselog tijesta u uvjetima sniženih temperatura i dehidracije. Provedeno je i ocjenjivanje kruha (boja, miris, okus) izrađenog prema najuspjelijim recepturama s venecijanskim i međimurskim starterom kiselog tijesta.

Rezultati istraživanja pokazali su da :

- ❖ prirast volumena kiselog tijesta najbrži je u tijestu s najvećom masom startera A i B , a najpoželjnija svojstva veličine i ujednačenosti zračnih komora te stabilnosti tijesto dobiva dodatkom najvećeg udjela šećera i soli i srednje vrijednosti udjela vode; starter A i starter B daju tijesto podjednake svojstava, dok temperatura odmaranja kiselih tijesta od +27°C uz polagani prirast volumena unutar šest sati, najpovoljnije utječe na pokazatelje kvalitete tijesta,
- ❖ aktivnost startera kiselog tijesta najbolje je očuvana na temperaturi od + 8°C u hladnjaku, a sporo se aktivira dehidrirani i zamrznuti starter,
- ❖ organoleptičko ocjenjivanje kvalitete kruha izrađenog prema dvije najuspjelije recepture za kiselo tijesto dalo je najkvalitetniji originalni proizvod: elastičan kruh, bez mjehura i pukotina, privlačnog osebujnog okusa i mirisa - kiseli kruh izrađen prema recepturi br. B80 koja sadrži venecijanski starter.



LITERATURA

- Albrecht T. i sur. Priručnik o pekarstvu i slastičarstvu, Biblioteka "Kruh za život", Zagreb, 2010. str. 253-306.
- Barbieri V., 2013. Vrijeme je za gozbu, Profil, Zagreb, str. 32-33.
- Duraković S. 1991. Mikroorganizmi u hrani, Prehrambena mikrobiologija, Medicinska naklada Zagreb, str. 199-201.
- Duraković S., Duraković L. 2001.. Uvod, Mikrobiologija namirnica, Kugler, Zagreb, str. nije numerirana
- Filajdić M i sur. Kontrola kvalitete u prehrambenoj industriji, skripta za internu upotrebu, PBF, Zagreb, 1993, str. 9. -135.
- Novotni D., Mrvčić J., Edukacija o inovativnim teorijama u pekarstvu, <http://www.nutricionisticki-centar-izvrsnosti.eu/index.php/aktivnosti/1-edukacija-nastavnika/1-2-edukacija-o-inovativnim-tehnologijama-u-pekarstvu>.
Pristupljeno 18.12.2014.
- Penić J. 2010. Aktivno kiselo tijesto, Novi pekar, Pan Press, Zagreb, Prosinac, str. 12-15.
- Pekara Čakovečki Mlinovi, Čakovec, tehnolog, usmeni izvor
- Pekara Latica, Vindija, Varaždin, tehnolog, usmeni izvor
- Soupiron L/Lesaffre International, 2010. Kiselo tijesto. Koje i za koju namjenu?, Prezentacija, Stručni skup pekara, Brela, str. 26-28.05.2010.

UTJECAJ TEMPERATURE NA BRZINU RASTA KUĆNOG ŠTURKA (*Acheta domestica*)

Lora Pevec, 1. razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: Romana Halapir Franković

SAŽETAK

Kućni šturak (*Acheta domestica*) jedna je od tri najčešće komercijalno dostupne vrste šturaka koje ljudi koriste u različite svrhe, ponajprije kao hranu za kućne ljubimce. Zbog široke primjene uzgaja se na farmama ili u kućnim uzgajalištima, pri čemu je važno osigurati im što bolje uvjete za brži razvoj. Cilj ovog istraživanja bio je istražiti utječu li različite temperature u kućnom uzgoju na brzinu rasta kućnog šturka. U istraživanje su uključene dvije skupine šturaka od kojih je svaka sadržavala 15 jedinki. Jedna skupina uzgajana je na prosječnoj temperaturi 31°C, a druga na 24°C. Veličina šturaka mjerena je svakih pet dana do završetka njihova rasta i razvoja. Izračunata je ukupna brzina rasta te brzina rasta za svaki period između dva mjerenja. Konačna veličina šturaka na 31°C iznosila je prosječno 27 mm (nakon 30 dana), a konačna veličina šturaka na 24°C prosječno 26 mm (nakon 55 dana). Razlika u veličini između ove dvije skupine bila je statistički značajna ($p < 0,0001$) u svim točkama praćenja. Razlika između veličine mužjaka i ženki bila je statistički značajna ($p < 0,0105$) samo na 31°C. Ukupna brzina rasta šturaka na 31°C iznosila je 0,67 mm/dan, a na 24°C 0,43 mm/dan. Također su uočene i dvije različite brzine za vrijeme rasta, nazvane fazom bržeg i fazom sporijeg rasta. Životni vijek šturaka također ovisi o temperaturi, na većoj temperaturi šturci žive kraće. U šturaka uzgajanih u grijanom terariju iznosio je prosječno 65 dana, a kod šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature prosječno 128 dana. Više temperature (~31°C) pozitivno utječu na rast i razvoj šturaka; postiže se brži rast i veća konačna duljina nego pri nižim temperaturama, ali je životni vijek kraći.

Ključne riječi: kućni šturak, uzgoj, temperatura

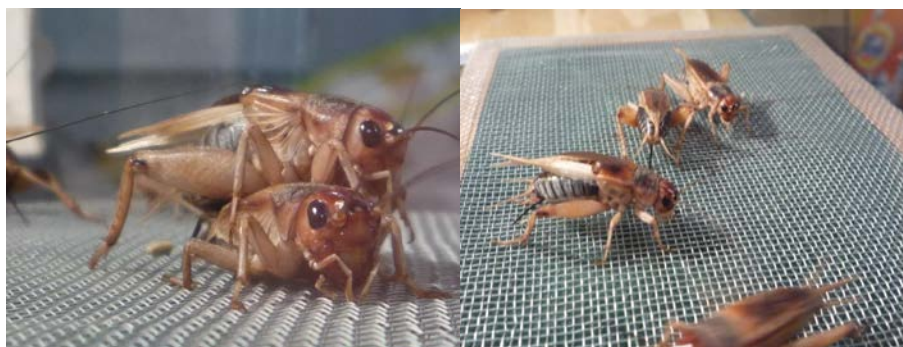
UVOD

Različite vrste šturaka široko su rasprostranjene u prirodi diljem svijeta. Ljudi ih koriste u različite svrhe, primjerice kao mamac za ribe, hranu za kućne ljubimce i druge životinje koje uzgajaju (pauci, gmazovi, ptice i neki sisavci), a u mnogim dalekoistočnim kulturama čak i kao specijalitet u vlastitoj ishrani (Parajulee, DeFoliart i Hogg, 1993.). Zbog tako široke primjene, šturci se nerijetko uzgajaju na farmama ili u kućnim uzgajalištima. Najčešće komercijalno dostupne vrste su kućni šturak (*Acheta domestica* (Linnaeus)), jamajčanski poljski šturak (*Grillus assimilis* (Fabricius)) i afrički ili mediteranski poljski šturak (*Grillus bimaculatus* De Geer) (Eades, 2015.). Šturci su svejedi te se u prirodi hrane različitim organskim tvarima (biljkama, gljivicama, organizmima u raspadanju, drugim kukcima i sl.) (Wikipedia, 2010.). Prilikom uzgoja njihov obrok mora sadržavati dovoljno vode i hranjivih tvari, kao i dovoljno kalcija i kalija koji su im potrebni za rast i razvoj. Kvalitetan obrok sastoji se od raznovrsnog voća i povrća, pahuljica te suhe mačje ili pseće hrane (Nino 2007.; Brooks, 2004.). Ukoliko nemaju dovoljno hrane, šturci se nerijetko ponašaju kao kanibali, jedući svoje mrtve ili oslabljene jedinke, kao i tek nedavno presvučene šturke kojima se zaštitni sloj hitina još nije osušio pa su mekani i time čine lagan plijen (Wikipedia, 2010.) (slika 1.).



Slika 1. U slučaju nestanka hrane ili smanjivanja redovitog dnevnog obroka (lijevo), dolazi do pojave kanibalizma (desno).

Šturci se razmnožavaju spolnim putem, a nakon parenja spolno zrela ženka polaže jaja ubadanjem leglice duboko u podlogu (slika 2.). U prirodi ženka polaže najviše do 200 jaja tijekom kasnog ljeta i rane jeseni i to u vlažan pijesak ili mahovinu (Wikipedia, 2010.). U uzgajalištu ženka polaže jaja kontinuirano, čak do dva puta mjesečno, u vlažnu spužvicu ili gazu (Nino 2007.; Brooks, 2004.).



Slika 2. Spolno zrela ženka nakon parenja (lijevo) polaže jaja, ubadanjem leglice u mekanu podlogu (desno).

U hladnijim područjima jaja ostaju cijelu zimu u podlozi gdje ih je ženka položila, jer im je pri niskim temperaturama za razvoj potrebno više vremena. Mladi šturci iz jaja izlaze u proljeće, a ako izađu još tijekom zime, budući da su vrlo maleni mogu do toplijih dana živjeti unutar podloge u kojoj su se izlegli. U uzgajalištu, gdje je temperatura pogodna za razvoj, šturci se izlegnu već nakon desetak dana. Kada se izlegnu, šturci su veliki svega 2-3 mm, blijedi su i veoma ranjivi sve do stvrdnjavanja zaštitnog sloja hitina. Nemaju razvijene spolne organe i krila te nije moguće jednostavno razlikovanje mužjaka i ženki. Tijekom rasta prolaze 8-9 razvojnih stadija do postizanja spolne zrelosti, odnosno odrasle dobi (McCluney, Date, 2008.). Svakim prelaskom u novi razvojni stadij („presvlačenjem“) (slika 3.) ponovo kroz određeni period postaju ranjivi te ih nerijetko, uz sve ostale predatore, ponekad pojedu i njihovi roditelji. U povoljnim uvjetima razvoj traje oko 45 dana, a životni vijek odraslih zrelih jedinki oko 2-3 mjeseca (McCluney, Date, 2008.).



Slika 3. Presvlačenje – prelazak šturaka u novi razvojni stadij (lijevo); svježe presvučen šturak (desno).

OBRAZLOŽENJE TEME

Jedan od mojih kućnih ljubimaca je i kameleon. Kod držanja takvog ljubimca najveći problem je, zapravo, način hranjenja koji zahtijeva redovito nabavljanje određene vrste hrane, različitih kukaca. Zbog jednostavnosti komercijalne nabave odlučeno je da će se kameleon hraniti šturcima. No, najveći problem predstavljala je njihova nabavna cijena koja nije baš pristupačna pa smo tako, zbog egzistencije kameleona, počeli uzgajati i šturke. Kućne smo šturke smjestili u terarij i držali na sobnoj temperaturi od približno 25°C. Razmnožavali su se i izlijevali prosječno brzo, ali ta brzina izlijevanja novih jedinki je bila prespora za gladnog kameleona. Pronašavši u literaturi da u prirodi za naseljavanje traže mjesta gdje im je temperatura najpogodnija za razvoj te iznosi između 27°C i 33°C (Walker, 1999.), odlučeno je pokušati uzgoj u terariju grijanom pomoću žarulje na temperaturi koja približno iznosi 30°C.

Cilj ovog istraživanja bio je istražiti utječu li različite temperature u kućom uzgoju na brzinu rasta i razvoja te duljinu životnog vijeka kućnog šturka (*Acheta domestica*). Također se željelo istražiti postoji li razlika u brzini rasta odnosno duljini životnog vijeka između mužjaka i ženki uzgajanih u istim uvjetima.

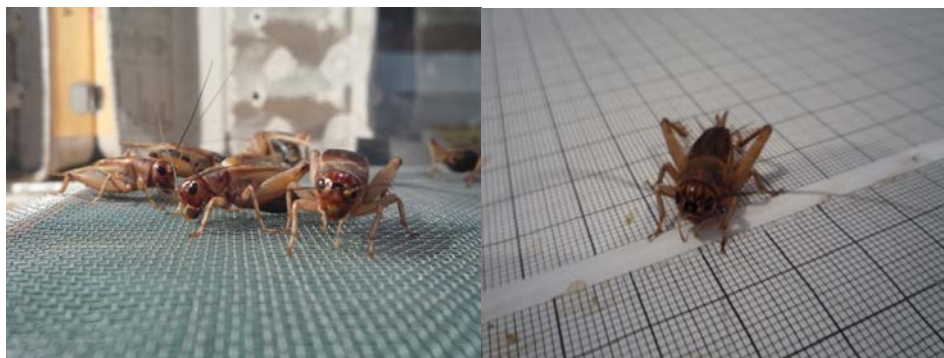
Pretpostavljeno je da će se šturci uzgajani u grijanom terariju razvijati znatno brže od šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature, te da se ekonomski isplati grijati terarije jer je prirast jedinki znatno bolji.

MATERIJAL I METODE RADA

MATERIJALI

ŠTURCI

U istraživanju je bio korišten kućni šturak (*Acheta domestica*) (slika 4.) koji najvjerojatnije potječe iz Jugozapadne Azije, odakle se rasprostranio diljem svijeta (Walker, 1999.). Taksonomski ovaj kukac pripada u red ravnokrilaca (Orthoptera), porodicu Gryllidae, odnosno rod *Acheta* (Wikipedia, 2014.). Sive je ili smeđe boje, a u prirodi dostiže prosječnu veličinu od 16 do 21 mm (Walker, 1999.; McLeod, 2005.). Krila su mu postavljena usporedno s tijelom i ne služe za letenje, već ženka osiguravaju zaštitu, a mužjacima omogućavaju zrikanje jer zvuk zrikanja nastaje trenjem krilo o krilo (stridulacija) (slika 4.). Stražnje noge su jače i veće u odnosu na prednje i srednje, što omogućava visoko i daleko skakanje. Razlika u izgledu mužjaka i ženki je u tome što ženke imaju leglicu dugačku oko 12 milimetara pomoću koje odlažu jaja (Wikipedia, 2010.). Za naseljavanje traže mjesta na kojima se temperatura kreće između 27°C i 33°C (Walker, 1999.).

Slika 4. Kućni šturak (*Acheta domestica*)

Prva dva tjedna njihova života, štruci su živjeli u kućnom uzgajalištu u kojem je temperatura iznosila $31 \pm 2^\circ\text{C}$, a prosječna vlažnost zraka $35 \pm 5\%$. Nakon toga bili su razvrstani u dvije skupine od kojih svaka sadržava 15 jedinki. Razvrstavanje je učinjeno po sistemu *matched pairs*, što znači da za svaku jedinku jedne skupine postoji jedinka odgovarajuće veličine u drugoj skupini. Svaka skupina smještena je u zasebni terarij.

METODE

PRIPREMA TERARIJA

Korišteni terarij za uzgoj šturaka načinjen je od stakla. Mora sadržavati kartone koji se inače koriste za pakiranje jaja. Njihova uloga je da se poveća životna površina unutar terarija te tako omogući šturcima penjanje i skrivanje, a time i smanji mogućnost kanibalizma. Temperature više od sobne se mogu regulirati pomoću žarulje koja ne smije prelaziti snagu od 30W jer bi previsoka temperatura mogla dovesti do pregrijavanja i preuranjene smrti šturaka. Potrebno je osigurati temperaturu od 27 do 33°C te vlažnost zraka $30 - 40\%$, a za vrijeme inkubacije jaja povećati vlažnost zraka na $60 - 70\%$ (mjerenje pomoću higrometra), svakodnevnim dodavanjem vode u plastičnu posudicu koja je sastavni dio terarija za inkubaciju (slika 5.). Također je potrebno svakodnevno osigurati dovoljno hrane, što znači da na raspolaganju imaju onoliko koliko žele pojesti (Nino, 2007.; Brooks, 2004.).

ODRŽAVANJE TEMPERATURE U TERARIJIMA

Jedna skupina šturaka smještena je u terarij grijan žaruljom snage 15W, a druga u terarij sobne temperature. Temperature u oba terarija konstantno su bile mjerene digitalnim termometrima, a i svakodnevno očitavane u približno isto vrijeme (22 h). Termometri su bilježili trenutne vrijednosti te minimalne i maksimalne vrijednosti tijekom prethodna 24 sata (slika 6.).

HRANJENJE I ODRŽAVANJE ŠTURAKA

Svakoga dana nakon očitavanja temperature terariji su bili čišćeni te je šturcima bila ostavljena dovoljna količina svježeg i suhe hrane za sljedeća 24 sata. Jedan tipičan obrok sadržavao je mrkvu, jabuku ili krušku, kupus i suhu mačju hranu.



Slika 5. Terariji za inkubaciju i razvoj kućnih šturaka.



Slika 6. Terariji za pokus.

MJERENJE VELIČINE ŠTURAKA

Veličina šturaka mjerena je svakih pet dana počevši od dana razvrstavanja u dvije skupine (nulta točka) pa sve do završetka rasta i razvoja svih šturaka u obje skupine (posljednja točka). Mjerenje je izvođeno na dva načina, ovisno o veličini šturaka. Manji su šturci mjereni u posebnom terariju, na čijem je dnu bio postavljen milimetarski papir (slika 7.). Veći su šturci mjereni pojedinačno ravnalom, tako da im je kretanje ograničeno unutar epruvete (slika 8.). Veličina tijela mjerena je od glave do zatka, ne uključujući noge i nesilicu. Posebno su mjereni mužjaci i ženke.



Slika 7. Mjerenje šturaka na milimetarskom papiru.



Slika 8. Mjerenje šturaka pomoću epruvete.

BRZINA RASTA

Brzina rasta izračunata je kao razlika između konačne i početne veličine šturaka u pojedinim mjerenjima, podijeljena s brojem dana između ta dva mjerenja. Izračunata je i ukupna brzina rasta za cijeli period praćenja (30 dana) te brzina rasta za svaki period između dva mjerenja (5 dana) (slika 9.).

$$v = \frac{(d_k - d_p)}{t}$$

v = brzina (mm/dan)

d_k = konačna veličina (mm)

d_p = početna veličina (mm)

t = vrijeme (dani)

Slika 9. Formula za izračunavanje brzine rasta u određenom vremenskom periodu.



ŽIVOTNI VIJEK

Praćen je i životni vijek svakog šturka, odnosno bilježen je broj dana koji su doživjeli. Mjerenje životnog vijeka započeto je posljednjeg dana izlijevanja i bilježeno do kraja životnog vijeka šturaka.

STATISTIČKA ANALIZA

Rezultati mjerenja upisani su u računalno i obrađeni. Statistička analiza napravljena je uz pomoć programa GraphPad Prism 5 (GraphPad Prism version 5.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego, California, USA). Za svaku skupinu posebno određen je medijan (pojam koji određuje sredinu skupine tako da se pola skupine nalazi iznad medijana, a pola ispod te je on manje osjetljiv na ekstremne vrijednosti od aritmetičke sredine stoga je pogodniji za ovakve tipove izračuna), a za izračunavanje razlike između pojedinih skupina korišten je Mann Whitneyev test (statistički test kojim se izračunava jesu li uočene razlike između skupina statističke značajne). Dobivene razlike smatrane su statistički značajnima kod vrijednosti $p < 0,05$.

REZULTATI

TEMPERATURE

Prosječna maksimalna temperatura mjerena tijekom cijelog pokusa u grijanom terariju iznosila je 32,6°C, a prosječna minimalna 29,26°C. U terariju sobne temperature prosječna maksimalna temperatura iznosila je 25,1°C, a prosječna minimalna 22°C. Prosječna temperatura u vrijeme očitavanja (svaki dan u 22 h) iznosila je u grijanom terariju prosječno 31°C, a u terariju sobne temperature prosječno 24°C (tablica 1.).

Tablica 1. Kretanje temperatura u šturaka uzgajanih na 31°C i na 24°C

	31°C	24°C
period praćenja	24.9. - 24.10.2014.	24.9. - 18.11.2014.
prosječna trenutna temperatura	31,20°C	24,40°C
prosječna maksimalna temperatura	32,75°C	25,20°C
prosječna minimalna temperatura	29,25°C	22,10°C

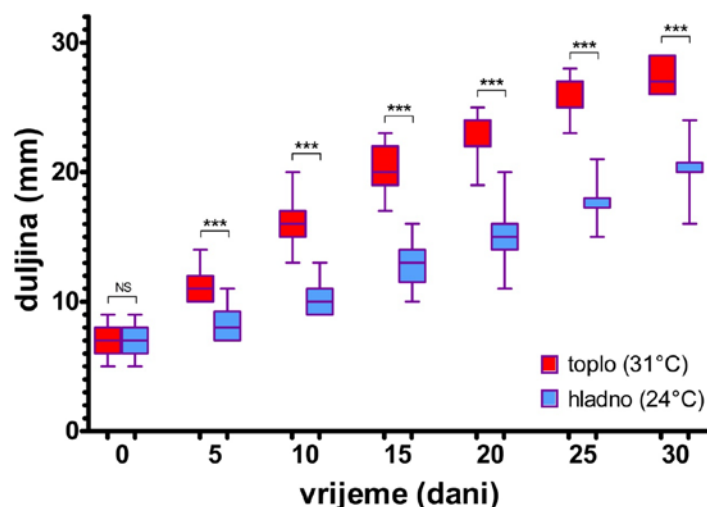
VELIČINA ŠTURAKA

Početna veličina šturaka u oba terarija iznosila je prosječno 7 mm. Budući da su razvrstani po sistemu *matched pairs*, u nultoj točki nije bilo razlike u prosječnoj veličini šturaka jedne i druge skupine (7 mm).

U svim sljedećim točkama, razlika u prosječnoj veličini bila je statistički značajna (prosječna veličina šturaka uzgajanih u grijanom terariju vs prosječna veličina šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature):

- prva točka praćenja (5. dana) 11 mm vs 8 mm ($p < 0,0001$)
- druga točka praćenja (10. dana) 16 mm vs 10 mm ($p < 0,0001$)
- treća točka praćenja (15. dana) 20 mm vs 13 mm ($p < 0,0001$)
- četvrta točka praćenja (20. dana) 24 mm vs 15 mm ($p < 0,0001$)
- peta točka praćenja (25. dana) 25 mm vs 18 mm ($p < 0,0001$)
- šesta točka praćenja (30. dana) 27 mm vs 20 mm ($p < 0,0001$)

Do završetka razvoja šturci su postigli konačnu veličinu koja je u grijanom terariju iznosila prosječno 27 mm nakon 30 dana, a veličina šturaka uzgojenih u terariju sobne temperature prosječno 26 mm nakon 55 dana. (slika 8).

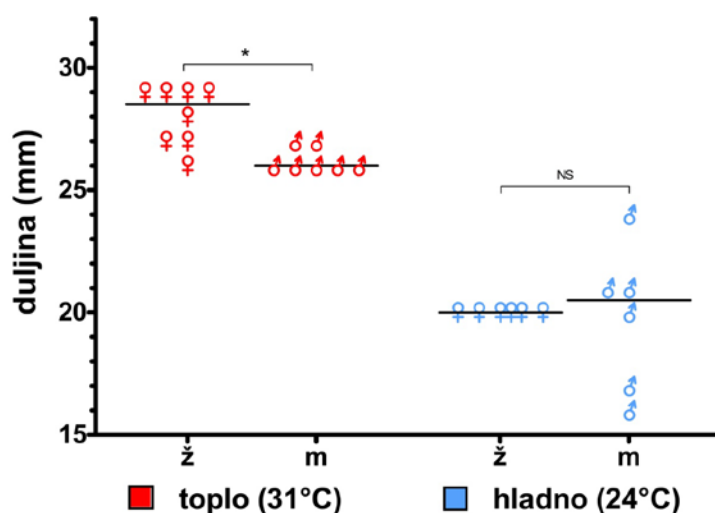


Slika 8. Veličina šturaka. Prikazane su veličine 15 šturaka uzgajanih u grijanom terariju - toplo (31°C) (crveno) i 15 šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature - hladno (24°C) (plavo), prije (0) i tijekom šest točaka praćenja (5, 10, 15, 20, 25 i 30 dana). Za izračunavanje razlike između skupina korišten je Mann Whitneyev test, a dobivene razlike smatrane su statistički značajnima kod vrijednosti $p < 0,05$.

Razine statističke značajnosti: NS - nije značajno; * - $< 0,05$; ** - $< 0,01$; *** - $< 0,001$.

USPOREDBA RASTA MUŽJAKA I ŽENKI ŠTURAKA

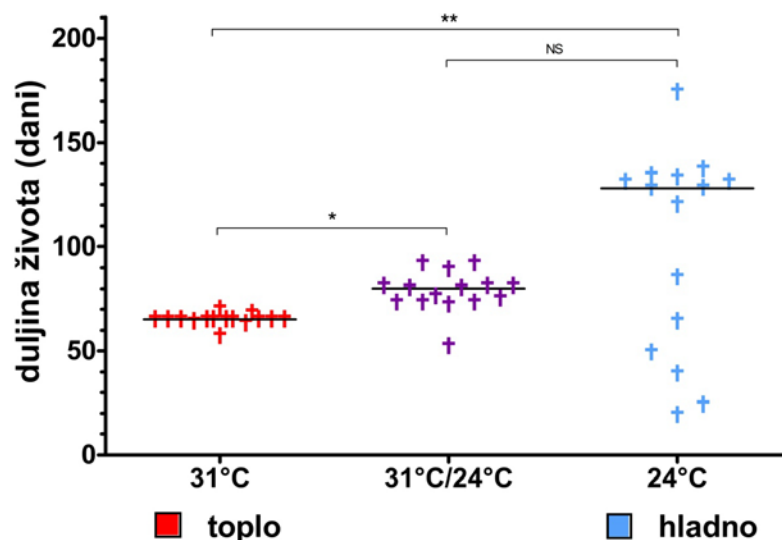
U grijanom terariju po završetku istraživanja konačna veličina ženki iznosila je 28,5 mm, a mužjaka 26,0 mm, a u terariju sobne temperature veličina ženki iznosila je 26,6 a mužjaka 26 mm (tablica 5. i tablica 6. u prilogu). Razlika između veličine mužjaka i ženki statistički je značajna ($p < 0,0105$) samo u grijanom terariju (slika 2.).



Slika 9. Veličina mužjaka i ženki. Prikazane su veličine 8 ženki i 7 mužjaka uzgajanih u grijanom terariju - toplo (31°C) (crveno) te 6 ženki i 6 mužjaka uzgajanih u terariju sobne temperature - hladno (24°C) (plavo), u zadnjoj točki praćenja skupine uzgajane u grijanom terariju (30 dana). Za izračunavanje razlike između skupina korišten je Mann Whitneyev test, a dobivene razlike smatrane su statistički značajnima kod vrijednosti $p < 0,05$.

Razine statističke značajnosti: NS - nije značajno; * - $< 0,05$; ** - $< 0,01$; *** - $< 0,001$.

živjela u grijanom terariju, a kasnije je prebačena u terarij sobne temperature (medijan iznosi 80 dana)(slika 10.).



Slika 10. Životni vijek šturaka. Prikazan je životni vijek 15 šturaka uzgajanih u grijanom terariju - toplo (31°C) (crveno) i 15 šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature - hladno (24°C) (plavo). Također je prikazan životni vijek 15 šturaka koji su do kraja razvoja (30 dana) uzgajani u grijanom terariju, a potom u terariju sobne temperature (31°C/24°C) (ljubičasto). Za izračunavanje razlike između skupina korišten je Kruskal-Wallisov test, a dobivene razlike smatrane su statistički značajnima kod vrijednosti $p < 0,05$.

Razine statističke značajnosti: NS - nije značajno; * - $< 0,05$; ** - $< 0,01$; *** - $< 0,001$.

RASPRAVA

Razvoj šturaka u prirodi ovisan je o godišnjem dobu i vremenskim uvjetima, pri čemu promjene temperature imaju značajnu ulogu. Pogodni uvjeti u uzgajalištima omogućavaju znatno skraćivanje razvoja pa se šturci izlegnu već desetak dana nakon polaganja jaja (Nino, 2007.; Wikipedia, 2010.; Brooks, 2004.). Rezultati ovog istraživanja u skladu su s dosadašnjim spoznajama te pokazuju da šturci uzgajani u grijanom terariju rastu brže i postižu veću konačnu duljinu u odnosu na one uzgajane u terariju sobne temperature. Literaturni podaci pokazuju da prosječna veličina kućnog šturka u prirodi iznosi od 16 do 21 mm (Walker, 1999.; McLeod, 2005.). U ovom istraživanju prosječna duljina bila je veća u šturaka uzgajanih na temperaturi 31°C u odnosu na one uzgajane na temperaturi 24°C u svakoj točki praćenja. Konačna postignuta veličina šturaka uzgajanih u grijanom terariju iznosila je prosječno 27 mm (nakon 30 dana) te 26 mm (nakon 55 dana) kod šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature. Šturci uzgajani u grijanom terariju kao i šturci uzgajani u terariju sobne temperature, imaju veće prosječne veličine nego šturci koji žive u prirodi, o čijoj veličini podatke nalazimo u literaturi (Walker, 1999.; McLeod, 2005.). Vjerojatni uzrok tome je uz stalnu optimalnu temperaturu i vlagu, dovoljna količina hrane koja im je stalno na raspolaganju.

Osim izmjerene duljine, na brži rast i razvoj šturaka u grijanom terariju ukazuje i opažanje da su znatno aktivniji te konzumiraju veće količine hrane u odnosu na šturke uzgajane u terariju sobne temperature. Zanimljivo je da su i svjetlijih tonova što je možda potaknuto kontinuiranim osvjetljenjem. Relativno nepovoljniji uvjeti u terariju sobne temperature doveli su, osim do sporijeg napredovanja, i do ugibanja nekoliko jedinki. Ugibanje je bilo izraženo u početku pokusa, vjerojatno zbog slabije adaptacije na te nepovoljnije uvjete.



Rezultati istraživanja također su pokazali da ženke uzgajane u grijanom terariju postižu veću konačnu, statistički značajnu, duljinu u odnosu na mužjake. Između mužjaka i ženki uzgajanih na sobnoj temperaturi nije bilo statistički značajne razlike.

Prosječna brzina rasta šturaka uzgajanih u grijanom terariju bila je veća od prosječne brzine rasta šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature. Najzanimljiviji rezultat ovog istraživanja su dvije različite brzine rasta uočene u razvoju šturaka. Početak njihovog rasta nazvan je fazom bržeg rasta, a nastavak rasta fazom sporijeg rasta. Kod šturaka uzgajanih u grijanom terariju brzina rasta iznosila je prosječno 0,85 mm/dan u fazi bržeg rasta, koja je bila prekinuta postizanjem prosječne veličine 24 mm, te prosječno 0,30 mm/dan u fazi sporijeg rasta koja je trajala do završetka razvoja. Kod šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature brzina rasta u fazi bržeg rasta iznosila je prosječno 0,43 mm/dan i bila je prekinuta postizanjem prosječne veličine 24 mm, a u fazi sporijeg rasta, koja je bila prekinuta završetkom razvoja, 0,13 mm/dan. Faza bržeg rasta kao i faza sporijeg rasta kod šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature dvostruko je sporija u odnosu na jedinke uzgajane u grijanom terariju.

Šturci uzgajani u terariju sobne temperature došli su u konačan stadij razvoja nakon 30 dana, a šturci uzgajani u terariju sobne temperature nakon 55 dana. Ako to usporedimo s podacima iz literature gdje se navodi da u povoljnim uvjetima razvoj traje oko 45 dana (McCluney, Date, 2008.) uočavamo da usprkos ostalim povoljnim uvjetima (dovoljna količina vlage i hrane) temperatura ima najveći učinak na duljinu razvoja jedinki budući da su se jedinke na nižim temperaturama razvijale sporije od onih u prirodi.

Utjecaj temperature na brzinu rasta uočen ovim istraživanjem u skladu je s nalazom istraživanja američkih autora (McCluney, Date, 2008.). Pri izračunavanju brzine rasta njihovi šturci bili su stari 31 dan. Usporedbom rezultata oba istraživanja uočljiva je proporcionalnost dobivenih vrijednosti:

- naši šturci uzgajani na sobnoj temperaturi - 0,43 mm/dan pri 24°C
- podatci američkih autora - 0,61 mm/dan pri 27°C
- naš šturci uzgajani u grijanom terariju - 0,67 mm/dan pri 31°C

Pronašavši u literaturi da u prirodi za naseljavanje traže mjesta gdje im je temperatura najpogodnija za razvoj te iznosi između 27°C i 33°C (Walker, 1999.), možemo zaključiti kako se dobivene razlike mijenjaju proporcionalno (brzina rasta povećava se povećavanjem temperature).

Rezultati istraživanja pokazali su da životni vijek šturaka uzgajanih u grijanom terariju iznosi prosječno 65 dana, a kod šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature 128 dana, što je gotovo dvostruko više. Ako to usporedimo s podacima iz literature (McCluney, Date, 2008.) gdje se navodi da je životni vijek odraslih zrelih jedinki u prirodi između 2-3 mjeseca uočavamo da jedinke iz grijanog terarija žive jednako kao oni u prirodi usprkos zadovoljenim ostalim uvjetima (prvenstveno hrana), što pretpostavljamo da je zbog brzog rasta, a samim time i ubrzanog metabolizma. Jedinke koje su se razvijale u terariju sobne temperature imale su, naprotiv, puno duži životni vijek (4 mjeseca). Također, šturci uzgajani u grijanom terariju su uginuli u jednom kraćem periodu, a kod šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature taj interval nije bio jednolik već je najprije nekoliko njih uginulo u početnom djelu pokusa, djelu adaptacije, zatim između 120. i 137. dana, a samo je jedan šturak doživio duboku starost (174 dana).



Radi ovalike razlike između životnog vijeka šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature i onih uzgajanih u grijanom terariju, uvedena je nova skupina šturaka koja je bila izvađena iz grijanog terarija kada je dostigla odraslu dob (30 dana nakon inkubacije koja traje 14 dana), uz hipotezu da će njihov životni vijek biti otprilike na sredini između životnog vijeka šturaka uzgajanih u terariju sobne temperature i šturaka uzgajanih u grijanom terariju. Po završetku pokusa, hipoteza je potvrđena i ustanovljeno je kako su šturci živjeli prosječno 80 dana što je otprilike na sredini životnog vijeka prve dvije skupine šturaka. Ova skupina se odlično adaptirala na manje povoljne uvjete, ali njihov je životni vijek, u usporedbi sa životnim vijekom šturaka uzgajanih na sobnoj temperaturi, relativno kratak, stoga je odlučeno da se izvade još dvije skupine šturaka, jedna 10, a druga 20 dana nakon inkubacije koja traje 14 dana kako bi se vidjelo kako će se oni adaptirati i koliki će im na kraju biti životni vijek. Ovaj pokus je još u tijeku stoga će se rezultati i zaključci moći donijeti samo daljnjim praćenjem, a pretpostavka je da će se obje skupine odlično adaptirati te da će skupina izvađena iz grijanog terarija 20 dana nakon inkubacije živjeti otprilike na pola puta između prosječnog životnog vijeka šturaka izvađenih nakon 30 i onih izvađenih nakon 10 dana inkubacije. S druge strane, pretpostavlja se da će skupina izvađena nakon 10 dana inkubacije živjeti zanemarivo manje od skupine uzgajane na sobnoj temperaturi.

ZAKLJUČCI

Iz ovog istraživanja proizašlo je nekoliko zanimljivih spoznaja:

1. prosječna duljina šturaka veća je u jedinki uzgajanih na temperaturi 31°C u odnosu na one uzgajane na temperaturi 24°C u svakoj točki praćenja
2. viša temperatura povoljnija je za razvoj šturaka
3. ženke uzgajane u grijanom terariju postižu veću konačnu duljinu u odnosu na mužjake
4. prosječna brzina rasta šturaka uzgajanih na temperaturi 31°C veća je od prosječne brzine rasta šturaka uzgajanih na temperaturi 24°C
5. u obje skupine šturaka uočene su dvije različite faze rasta (brža i sporija) odijeljene postizanjem prosječne veličine 24 mm
6. životni vijek šturaka značajno je kraći pri dužoj izloženosti višim temperaturama

LITERATURA

Brooks, R. Breeding Crickets. 2004. Dostupno na URL adresi: <http://www.herpcenter.com/breeding-feeder-insects/breeding-crickets.html>.

Datum pristupa informaciji: 23. listopada 2014.

Eades, D.C.; Otte, D.; Cigliano, M.M. i Braun, H.. Orthoptera Species File. Version 5.0/5.0. 2015. Dostupno na URL adresi: <http://orthoptera.speciesfile.org/HomePage/Orthoptera/HomePage.aspx>. Datum pristupa informaciji: 19. ožujka 2015.

McCluney, K.E., Date, R.C. The effects of hydration on growth of the house cricket, *Acheta domestica*. // Journal of Insect Science. Vol. 8 (2008): 1-9.

McLeod, R. Species *Acheta domestica* - House Cricket. Bugguide. Iowa State University Entomology. 2005. Dostupno na URL adresi: http://bugguide.net/node/view/31207#life_cycle. Datum pristupa informaciji: 23. listopada 2014.

Nino, G. Uzgoj cvrčaka. 2007. Dostupno na URL adresi: <http://www.akvarij.net/index.php/teraristika-othermenu-179/hrana-othermenu-181/229-uzgoj-cvraka>. Datum pristupa informaciji: 23. listopada 2014.

Parajulee, M.N., DeFoliart, G.R., Hogg, D.B. Model for Use in Mass-Production of *Acheta domestica* (Orthoptera: Gryllidae) as Food. // J Econ Entomol. 86 (1993): 1424-1428.


**Utjecaj temperature na brzinu rasta kućnog šturka
(*Acheta domestica*)**

 Mentor:
Halapir Franković R.

Walker, T.J. House cricket, *Acheta domestica*. Featured Creatures. University of Florida/IFAS. 1999. Dostupno na URL adresi: <http://entomology.ifas.ufl.edu/creatures/misc/crickets/adomest.html>. Datum pristupa informaciji: 23. listopada 2014.

Wikipedia. Cricket (insect). 2010. Dostupno na URL adresi: http://en.wikipedia.org/wiki/Cricket_%28insect%29#Diet_and_life_cycle. Datum pristupa informaciji: 23. listopada 2014.

Wikipedia. House cricket. 2014. Dostupno na URL adresi: http://en.wikipedia.org/wiki/House_cricket. Datum pristupa informaciji: 23. listopada 2014.



UTJEČE LI MLIJEKO RAZLIČITIH PROIZVOĐAČA NA KVALITETU KEFIRA?

Lara Heim, 1.razred

Sara Gerić, 1.razred

II. gimnazija, Zagreb

Mentor: Bojana Davda Sirovina

SAŽETAK

Cilj rada je utvrditi hoće li se korištenjem mlijeka različitih proizvođača dobiti kefir koji će sadržavati dovoljan broj laktobacila i kvasaca te koje će mlijeko uz korištenje kefirnih zrna kojima raspolažemo dati kefir s najvećim brojem laktobacila i kvasaca. Analizom rezultata provedene osjetilne analize pokušat će se utvrditi postoji li povezanost u broju laktobacila i kvasaca s okusom kefira pripremljenog od mlijeka različitih proizvođača. Za dobivanje kefira korištena je tradicionalna metoda, koja je provedena izravnim dodavanjem kefirnih zrna mlijeku. Osjetilna analiza provedena je uz pomoć 10 članova žirija koji su analizirali izgled, okus, miris, teksturu i opći dojam. Članovi žirija odabrani su iz populacije koja konzumira kefir bar jednom tjedno. Svaki od parametara ocijenjen je ocjenom od 0 do 10. Zastupljenost mikroorganizama određena je na selektivnim hranjivim podlogama. Kulture bakterija uzgajane na MRS selektivnim podlogama, a za uzgoj kulture kvasaca korišten je krumpirov dekstrozni agar. Ukupan broj mikroorganizama na selektivnim hranjivim podlogama određen je brojanjem mikroorganizama koji formiraju kolonije (CFU/ ml). Najbolju prosječnu ocijenjenu za izgled, okus i teksturu dobio je kefir pripremljen od Meggle mlijeka, a najmanju prosječna ocjena za iste parametre dobio je kefir pripremljen od Dukat mlijeka. Najbolja prosječna ocjena za miris i opći dojam zabilježena je kod kefira pripremljenog od mlijeka Tonka, dok je najmanja prosječna ocjena za miris zabilježena kod kefira pripremljenog od Meggle mlijeka. Najlošiji dojam ostavili su kefiri pripremljeni od Vindija i Dukat mlijeka. Najveći broj laktobacila i kvasaca zabilježen je kod kefira pripremljenog od Meggle mlijeka, dok je najmanji broj laktobacila i kvasaca zabilježen kod kefira pripremljenog od mlijeka Vindija. Sve vrste mlijeka pogodne su za pripremu kvalitetnog kefira.

Ključne riječi: broj laktobacila, broj kvasaca, hranjive podloge

UVOD

Hipokrit je 400 godina prije Krista ustvrdio kako je mlijeko prirodna najsavršenija hrana. Nastaje u mliječnim žlijezdama različitih vrsta sisavaca i hranjiva je tekućina bijele boje. Kao jedina hrana sisavaca u ranom životu mlijeko zauzima posebno mjesto među namirnicama biljnog i životinjskog porijekla.

Mlijeko je emulzija u kojoj mliječna bjelančevina kazein ima ulogu stabilizatora, a dodavanjem određenih enzima mlijeku mliječni šećer prelazi u mliječnu kiselinu. Glavne sastavnice koje se nalaze u mlijeku su proteini, ugljikohidrati, voda, minerali, vitamini i enzimi. Za potrebe ljudske ishrane koristi se najčešće kravlje, ovčje i kozje mlijeko, koje je nutritivno jednako kravljem mlijeku, ali lakše za probavu.

U suvremenoj proizvodnji i potrošnji najveći značaj ima kravlje mlijeko, a na tržištu se pojavljuju razna mlijeka kao što su magareće, bademovo, zobeno, sojino, kokosovo i druga. Mlijeko možemo konzumirati sirovo i tada je najzdravije, ali uz uvjet da potječe od zdravih životinja. Osim mlijeka, u prehrani se koriste i mliječne prerađevine kao što su sir, kajmak, jogurt i kefir.

Mlijeko se dobiva mužnjom krava ili drugih životinja i to ručno ili pomoću aparata za mužnju. Mlijeko koje se dobiva mužnjom pomoću aparata ima mnogo manje bakterija nego ono mlijeko koje je



Utječe li mlijeko različitih proizvođača na kvalitetu kefira?

Mentor:
Davda
Sirovina B.

dobiveno ručno. Način mužnje i higijenski uvjeti, pasmina krave, dob, zdravlje i hranjenje životinje te postupak s mlijekom nakon mužnje imaju odlučujući značaj u kvaliteti i održivosti svježeg mlijeka. Put mlijeka od proizvođača do potrošača je dug, obično iznosi 36 do 40 sati, te se mlijeko mora izložiti procesu konzerviranja postupkom pasterizacije. Pasterizacija je proces kojim se sirovo mlijeko zagrijava na visokim temperaturama od 85°C u trajanju od 20 sekundi da bi se uništile patogene bakterije u mlijeku. Pasterizacija ima svojih nedostataka kao što su potpuno uništavanje enzima koji su potrebni za razgradnju i probavu mlijeka, smanjenje sadržaja vitamina, denaturacija mliječnih proteina, uništavanje vitamina B12 i B6, vitamina A, D, C, onemogućavanje apsorpcije kalcija iz mlijeka te ubijanje korisnih bakterije (Šupe, 2012). No, pasterizacija je nužna kako bi se očuvala higijenska ispravnost mlijeka i omogućilo nesmetano opskrbljivanje velikih potrošačkih centara. Mlijeko se u ambalažama pojavljuje pod nazivom životinje ili biljke od koje je dobiveno. Kvalitetno mlijeko je bijelo-žućkaste boje, neprozirno, ugodnog mirisa, blagog i slatkastog okusa, dok je mlijeko loše kvalitete plavkasto, vodenasto, kiselkastog okusa, neugodnog mirisa po nastambi ili hrani životinje. Količina mliječne masti smanjuje energetska vrijednost mlijeka, dok je nutritivna vrijednost sačuvana. Prodaje se u nekoliko varijanti, ovisno o udjelu mliječne masti, a na našem tržištu ono iznosi od 0,9% do 3,7%, često obogaćeno vitaminima i kalcijem.

Mlijeko se treba čuvati u hladnjaku jer se na višim temperaturama može ukiseliti te ga treba dobro zatvoriti kako ne bi upilo arome ostalih namirnica u hladnjaku. Ako se sirovo mlijeko ostavi na sobnoj temperaturi, ono će se ukiseliti.

Mlijeko ima i brojna ljekovita svojstva te je poznato da sadrži minerale kalcija koji održavaju jačinu i gustoću kostiju. Kalcij i fosfor se vežu u spoj koji kostima daje strukturu. Kalcij iz mlijeka bolje se prilagođava u organizmu nego kalcij iz drugih namirnica. Istraživanja su otkrila da kalcij štiti stanice debelog crijeva od tvari koje uzrokuju rak, sprječava slabljenje kostiju tijekom menopauze ili kod bolesti kao što je reumatoidni artritis (Meer, 1993).

Mlijeko i mliječni proizvodi su hrana o kojoj se danas mnogo raspravlja, no još će dugo vremena ostati značajan čimbenik prehrane, a rasprave oko njega utjecat će na prodaju, konzumaciju i naravno na uzgojnu strategiju, te promjene sastava mlijeka.

Od mlijeka se proizvode raznovrsni proizvodi kao što su sir, fermentirani mliječni napitci poput jogurta i kefira, a sve češće mlijeku i proizvodima od mlijeka dodaju se probiotici. Kefir je fermentirani mliječni napitak koji se proizvodi pomoću kefirnog zrna. Mikroorganizmi iz kefirnog zrna nisu još u potpunosti poznati jer se nije uspjelo proizvesti kefirno zrno pomoću izoliranih mikroorganizama. Karakteristično za kefir je 0,2% do 0,6% etilnog alkohola, 50 volumnih % CO₂ i pH vrijednost između 4.2 - 4.7 (Miletić, 1994).

OBRAZLOŽENJE TEME

Kefir je fermentirani mliječni napitak kiselkastog okusa. Smatra se da potječe s Kavkaza te da je star i do tisuću godina. Stanovnici Kavkaza poznati su po dugom životnom vijeku od preko stotinu godina, gotovo bez bolesti. Takav život je bio uobičajen za narode u područjima gdje se pripremao i u velikim količinama konzumirao kefir pa se pretpostavlja da je on jedan od ključnih čimbenika njihove dugovječnosti. Kefir je iz Kavkaza proširen po cijelom svijetu, a razvojem znanosti utvrđena su njegova ljekovita svojstva. Dobiva se uz pomoć kulture kefira ili kefirnih zrnaca koja se često nazivaju



Utječe li mlijeko različitih proizvođača na kvalitetu kefira?

Mentor:
Davda
Sirovina B.

„kefirna gljiva“ ili „tibetanska gljiva“, iako kefirna zrnca nisu gljive. Ona su po sastavu mješavina bjelančevina, aminokiselina, lipida i topljivih polisaharida, koja sadrži veliki broj dobrih, mliječno kiselih bakterija, octenih bakterija i sojeva kvasaca (Farnworth, 2005).

Kefir je jedan od najboljih probiotika jer sadrži korisne mikroorganizme kao što su vrste roda *Lactobacillus*, *Acetobacter*, *Saccharomyces* i *Bifidobacterium* te prebiotika jer sadrži tvari koje pospješuju rast korisnih mikroorganizama (Pogačić i sur., 2013). Probiotici uspostavljaju ravnotežu u crijevnoj flori, popravljaju probavu i jačaju imunitet. Kefir dobro utječe na zdravlje te pomaže pri liječenju mnogih bolesti i tegoba, kao što su alergije, razna upalna stanja, gastritis, zatvor, proljev, a uz to snižava visoki krvni tlak i šećer u krvi (Yoon i sur., 1999; WonHoet i sur., 2003). Osim što sadrži dobre bakterije i kvasce, kefir sadrži esencijalne masne kiseline, minerale, vitamine te druge organske spojeve poput bioaktivnih peptida i egzopolisaharida, kojima se pripisuje probiotički učinak na humano zdravlje (Hong i sur., 2010). Kefirna zrnca od kojih nastaje kefir izgledaju kao kuhana cvjetača, umnožavaju se u mlijeku i nemaju rok trajanja, ako se njima pravilno postupa. Za pripremu kefira najbolje je koristiti svježe domaće mlijeko – kravlje ili kozje. U nedostatku domaćeg mlijeka dobro je i industrijski obrađeno mlijeko, po mogućnosti svježije, a ne trajno.

Kefir iz mlijeka nastaje fermentacijom, a fermentacija je proces u kojem se mliječni šećer (laktoza) razgrađuje u mliječnu kiselinu pri čemu se oslobađa ugljikov dioksid pa je kefir pjenušavi napitak reskog okusa. Pogodan je i za osobe koje ne podnose mliječne proizvode i laktozu, jer obično dobro podnose kefir. Zbog pozitivnog utjecaja kefira na zdravlje on je svakodnevno zastupljen u prehrani mnogih ljudi od kojih ga neki svakodnevno pripremaju u domaćoj radinosti koristeći različite vrste mlijeka koje su im u tom trenutku dostupne. Razlike u okusima kefira koje smo primijetili s obzirom na mlijeko koje je korišteno za njegovu pripremu potaknula nas je na razmišljanje o njegovoj kvaliteti. Tijekom pripreme kefira za svakodnevnu uporabu zrna nismo dodavali u točnim omjerima pa nismo mogli biti sigurni utječe li na kvalitetu kefira mlijeko ili nešto drugačiji omjer kefirnih zrna i mlijeka.

Budući da proizvodnja kefira u domaćoj radinosti nije nepoznanica te se sve više koristi u svakodnevnoj prehrani smatramo da bi bilo korisno istražiti da li razlike između mlijeka različitih proizvođača utječu na kvalitetu kefira. Budući da se kefirna zrna dijele među poznanicima, bilo bi dobro utvrditi postoji li mlijeko koje uz kefirna zrna koja imamo daje najbolji kefir, čime bi se spriječilo bacanje neukusnog kefira te osiguralo korištenje najboljeg kefira koji se može pripremiti u kućnoj radinosti.

Kako navodi Pogačić i suradnici (2013) tipični kefir mora sadržavati najmanje 2,8 % proteina, manje od 10 % masti, najmanje 0,6 % mliječne kiseline, a postotak alkohola nije određen. Ukupan broj specificiranih mikroorganizama iz kulture mora biti najmanje 10^7 cfu/mL, a broj kvasaca ne manji od 10^4 cfu/mL.

Cilj istraživanja je utvrditi hoće li se korištenjem mlijeka različitih proizvođača dobiti kefir koji će sadržavati dovoljan broj laktobacila i kvasaca te koje će mlijeko uz korištenje kefirnih zrna kojima raspoložemo dati kefir s najvećim brojem laktobacila i kvasaca.

Analizom rezultata provedene osjetilne analize pokušat će se utvrditi postoji li povezanost u broju laktobacila i kvasaca s okusom kefira pripremljenog od mlijeka različitih proizvođača.



Utječe li mlijeko različitih proizvođača na kvalitetu kefira?

Mentor:
Davda
Sirovina B.

Pretpostavljamo da ćemo dokazati razlike u broju laktobacila i kvasaca kod kefira pripremljenog od mlijeka različitih proizvođača te da ćemo odabrati najpogodnije mlijeko za kefirna zrna kojima raspolažemo.

MATERIJAL I METODE RADA

Korišteni materijali su kefirna zrna dobivena od prijatelja koji se bavi makrobiotikom i u kućnoj radinosti pripravlja kefir. Korištena su svježa kravlja mlijeka mliječne masti 3,2% proizvođača Vindija, Dukat, Meggle i Tonka.

Metode rada

Za dobivanje kefira korištena je tradicionalna metoda, koja je provedena izravnim dodavanjem kefirnih zrna mlijeku. Svježe mlijeko (800 mL) različitih proizvođača inokulirano je s oko 4% (m/m) kefirnih zrna u staklenom vrču volumena 2 L pri čemu je vrč pokriven sterilnom gazom pričvršćenom gumicom. Nakon perioda fermentacije, 24 sata na 20-25 °C, zrna su odvojena od mlijeka filtriranjem kroz sterilno sito, isprana mlakom prokuhanom vodom i ostavljena na sušenju pri sobnoj temperaturi (Otles i Cagindi, 2003). Nakon toga su spremljena u hladnjak do slijedeće inokulacije. Pripremljeni kefir spremljen je u hladnjak na 5 °C. Osjetilna analiza provedena je idućeg dana, kada je započeta i mikrobiološka analiza pripremljenih kefira.

Osjetilna analiza

Osjetilna analiza provedena je uz pomoć 10 članova žirija koji su analizirali izgled, okus, miris, teksturu i opći dojam. Članovi žirija odabrani su iz populacije koja konzumira kefir bar jednom tjedno. Svaki od parametara ocijenjen je ocjenom od 0 do 10.

Uzorci kefira (100 ml) su u plastičnim čašama ponuđeni članovima žirija slučajnim rasporedom, pod šiframa. Uz kefir je između svakog kušanja ponuđen i kruh te čaša vode. Svaki je uzorak ocjenjivan pojedinačno odmah nakon kušanja (Kök-Taş i sur., 2013).

Mikrobiološka analiza

Priprema uzoraka kefira

Jedan gram uzorka kefira razrijeđen je sa 9 mL fiziološke otopine i homogeniziran 3 min u BagMixer 400 miješalici (Interscience, St Nom, Francuska) do dobivanja homogene otopine koja je poslužila za pripremu serije razrjeđenja. Izolacija mikroorganizama provedena je serijom razrjeđenja od 10^{-1} do 10^{-6} u omjeru 1 ml homogenizata na 9 ml fiziološke otopine. Iz odgovarajućeg razrjeđenja svakog od uzoraka kefira prebačeno je po 100 µl uzoraka na selektivne podloge koje su stavljene na inkubaciju (Jensterle, 2011).

Uzgoj mikroorganizama

Zastupljenost mikroorganizama određena je na selektivnim hranjivim podlogama. Kulture bakterija uzgajane su 3 dana na 37 °C, a kulture kvasaca 5 dana na 25°C.

Kod određivanja broja bakterija u kefiru korišteni su MRS agar (Merck, Njemačka) za određivanje broja laktobacila te krumpirov dekstrozni agar (Merck, Njemačka) za određivanje broja kvasaca (Kök-Taş i sur., 2013).



Utječe li mlijeko različitih proizvođača na kvalitetu kefira?

Mentor:
Davda
Sirovina B.

Brojanje pojedinačnih kolonija

Ukupan broj mikroorganizama na selektivnim hranjivim podlogama određen je brojanjem mikroorganizama koji formiraju kolonije (CFU/ ml). Broj mikroorganizama u mililitru kefira određen je prema formuli: CFU= broj kolonija/faktor razrjeđenja (Jensterle, 2011).

Statističke analize

Određivanja broja bakterija su rađena u duplikatu. Podaci su analizirani pomoću programa za obradu podataka Microsoft Excel 2010. Kao statistički značajni rezultati smatraju se vrijednosti različite na razini $p \leq 0,05$.

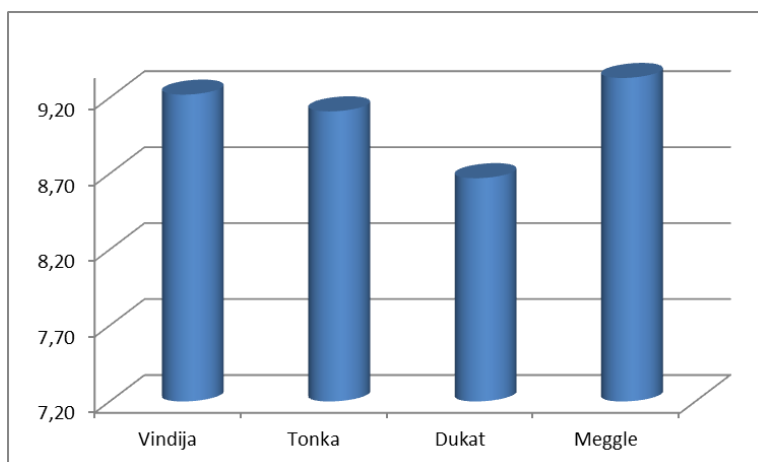
REZULTATI

Osjetilna analiza

Osjetilna analiza provedena je uz pomoć 10 članova žirija odabranih iz populacije koja jednom tjedno konzumira kefir.

Najbolju prosječnu ocijenjenu za izgled, okus i teksturu dobio je kefir pripremljen od Meggle mlijeka, a najmanju prosječnu ocjenu za iste parametre dobio je kefir pripremljen od Dukat mlijeka, što je prikazano na Slici 1., Slici 2. i Slici 4.

Najbolja prosječna ocjena za miris i opći dojam zabilježena je kod kefira pripremljenog od mlijeka Tonka, dok je najmanja prosječna ocjena za miris zabilježena kod kefira pripremljenog od Meggle mlijeka. Najlošiji dojam ostavili su kefiri pripremljeni od Vindija i Dukat mlijeka što je prikazano na Slici 5.

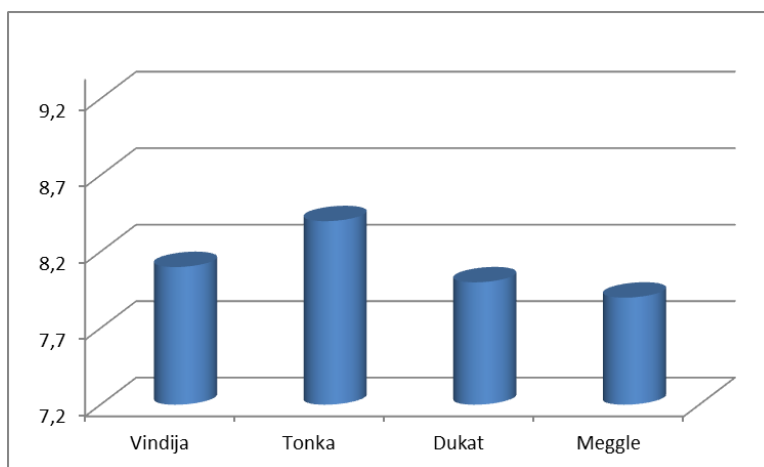


Slika 1. Prosječne ocjene za izgled kefira

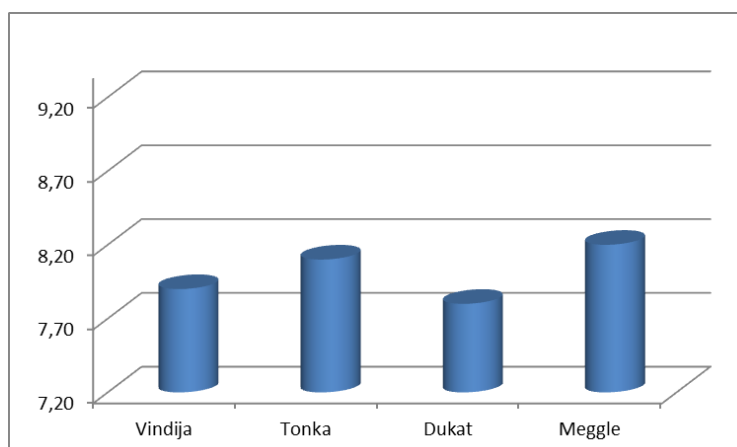


Utječe li mlijeko različitih proizvođača na kvalitetu kefira?

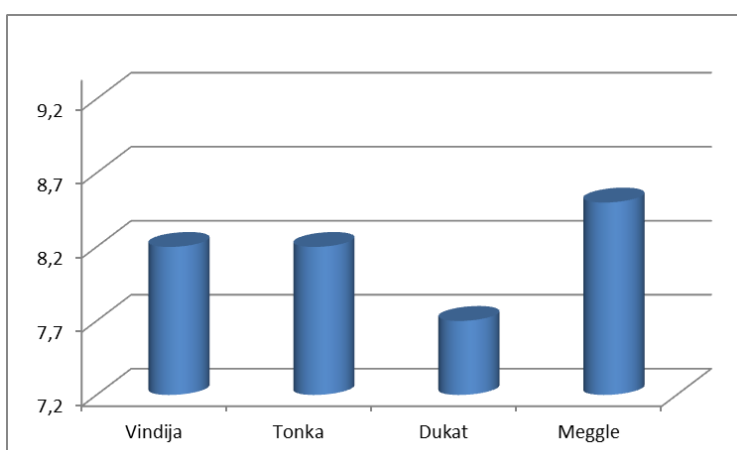
Mentor:
Davda
Sirovina B.



Slika 2. Prosječne ocjene za miris kefira



Slika 3. Prosječne ocjene za okus kefira

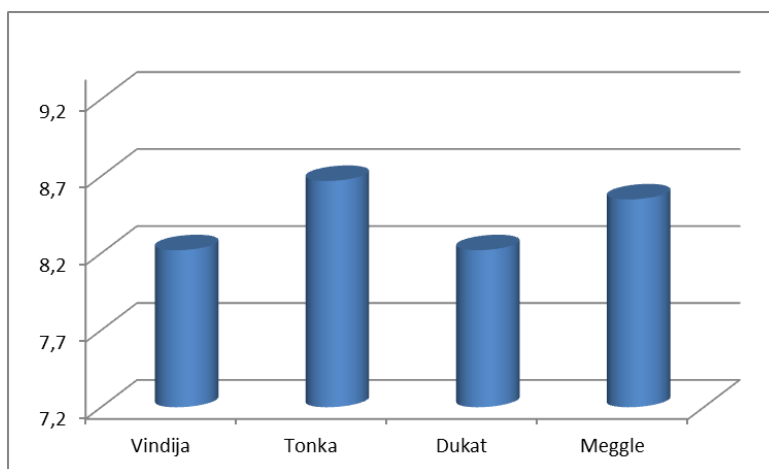


Slika 4. Prosječne ocjene za teksturu kefira



Utječe li mlijeko različitih proizvođača na kvalitetu kefira?

Mentor:
Davda
Sirovina B.



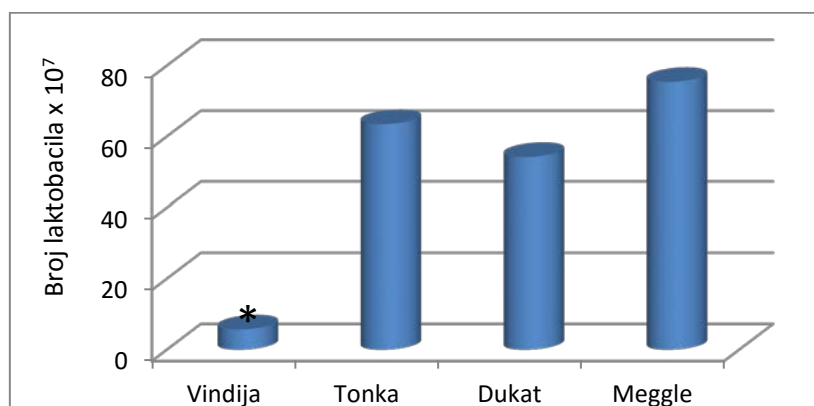
Slika 5. Prosječne ocjene za opći dojam kefira

Mikrobiološka analiza

Zastupljenost mikroorganizama određena je na selektivnim hranjivim podlogama. Laktobacili su uzgajani na MRS hranjivoj podlozi, a za uzgoj kvasaca korišten je krumpirov dekstrozni agar. Rezultati brojanja pojedinačnih kolonija laktobacila i kvasaca prikazani su u Tablici 1. i Tablici 2. Najveći broj laktobacila i kvasaca zabilježen je kod kefira pripremljenog od Meggle mlijeka, dok je najmanji broj laktobacila i kvasaca zabilježen kod kefira pripremljenog od mlijeka Vindija (Slika 1., Slika 2.).

Tablica 1. Ukupan broj laktobacila u kefirima pripremljenim od mlijeka različitih proizvođača

VRSTA MLJEKA	BROJ LAKTOBACILA
VINDIJA	$5,7 \times 10^7$
TONKA	63×10^7
DUKAT	54×10^7
MEGGLE	75×10^7



Slika 6. Broj laktobacila u kefirima pripremljenim od mlijeka različitih proizvođača

*Statistički značajno manje od ostalih uzoraka (t-test, $P < 0.05$)

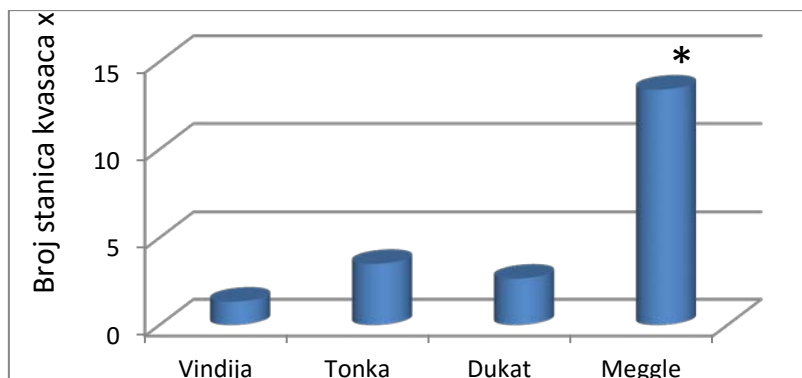


Utječe li mlijeko različitih proizvođača na kvalitetu kefira?

Mentor:
Davda
Sirovina B.

Tablica 2. Broj kvasaca u kefirima pripremljenim od mlijeka različitih proizvođača

VRSTE MLJEKA	BROJ KVASACA
VINDIJA	$1,33 \times 10^7$
TONKA	$3,5 \times 10^7$
DUKAT	$2,65 \times 10^7$
MEGGLE	$13,4 \times 10^7$



Slika 7. Broj kvasaca u kefirima pripremljenim od mlijeka različitih proizvođača

*Statistički značajno više od ostalih uzoraka (t-test, $P < 0.05$)

RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je utvrditi hoće li se korištenjem mlijeka različitih proizvođača dobiti kefir koji će sadržavati zadovoljavajući broj laktobacila i kvasaca te hoće li se kefir pripremljeni od mlijeka različitih proizvođača bitno razlikovati u broj laktobacila i kvasaca. Osjetilnom analizom pokušalo se utvrditi postoji li povezanost u broju laktobacila i kvasaca s okusom kefira.

Rezultati osjetilne analize provedene uz pomoć 10 članova žirija iz populacije koja konzumira kefir barem jednom tjedno pokazali su kako je najbolji izgled, okus i teksturu imao kefir pripremljen od Meggle mlijeka, a najlošiji izgled, okus i teksturu imao je kefir pripremljen od Dukat mlijeka. Najbolje ocijenjen kefir za miris i opći dojam bio je kefir pripremljen od mlijeka Tonka, dok je najlošiju ocjenu dobio kefir pripremljen od Meggle mlijeka. Najlošiji opći dojam ostavili su kefir pripremljeni od Vindija i Dukat mlijeka. Prilikom osjetilne analize jako dolazi do izražaja individualni doživljaj što je vidljivo u rezultatima gdje možemo zapaziti kako kefir pripremljen od mlijeka Vindija ima visoku ocjenu za izgled, ali malu ocjenu za opći dojam (Slika 1. i 5.).

Zastupljenost mikroorganizama određena je na selektivnim hranjivim podlogama. Najveći broj laktobacila i kvasaca zabilježen je kod kefira pripremljenog od Meggle mlijeka (Slika 6. i 7.). Broj kvasaca je statistički značajno viši kod kefira dobivenog od mlijeka Meggle ($13,4 \times 10^7$) u odnosu na kefire pripremljene od mlijeka Tonka, Dukat i Vindija (Tablica 2.). Najmanji broj kvasaca i laktobacila zabilježen kod kefira pripremljenog od mlijeka Vindija (Slika 6. i 7.). Broj laktobacila je statistički značajno niža kod kefira dobivenog od mlijeka Vindija ($5,7 \times 10^7$), nego kod kefira pripremljenih od mlijeka Meggle, Tonka i Dukat (Tablica 1). Kako bi kefir bio pogodan za korištenje ukupan broj specificiranih mikroorganizama iz kulture mora biti najmanje 10^7 cfu/mL, a broj kvasaca ne manji od 10^4 cfu/mL (Pogačić i sur. 2013). Kefiri dobiveni tijekom našeg pokusa imali su između $5,7 \times 10^7$ i



Utječe li mlijeko različitih proizvođača na kvalitetu kefira?

Mentor:
Davda
Sirovina B.

75×10^7 laktobacila što je vidljivo u Tablici 1, a broj kvasaca kretao se između $1,33 \times 10^7$ i $13,4 \times 10^7$ (Tablica 2.), te su prema ovim rezultatima sva mlijeka pogodna za pripremu kvalitetnog kefira.

Usporedbom rezultata osjetilne analize (Slika 1., 2., 3., 4 i 5.) i rezultata mikrobiološke analize (Slika 6. i 7.) čini se kako najbolji okus kefira pripremljenog od Meggle mlijeka možemo povezati s velikim brojem kvasaca što je statistički značajno u odnosu na ostale kefire. Budući da su ispitanici tijekom osjetilne analize uglavnom odgovorili kako im je miris kefira pripremljenog od Meggle mlijeka najlošiji možemo pretpostaviti da je najlošiji miris ovog kefira posljedica velikog broja kvasaca jer se odstupanja broja kvasaca podudara s razlikom u rezultatima osjetilne analize. Budući da je kefir pripremljen od Dukat mlijeka sadržavao mali broj kvasaca tijekom osjetilne analize ocijenjen najnižom ocjenom za okus, možemo pretpostaviti kako dobar okus kefira ovisi o količini kvasaca. Uočeno je kako su kefir s malim brojem kvasaca (Vindija i Dukat) slično ocijenjeni za okus i miris u odnosu na kefir pripremljen od mlijeka Meggle s najvećim brojem kvasaca.

Najbolji opći dojam i miris ostavio je kefir pripremljen od mlijeka Tonka iz čega možemo zaključiti da se u tom kefiru nalazio najbolji omjer laktobacila i kvasaca.

Istraživanje je potvrdilo našu pretpostavku te smo dokazali razlike u broju laktobacila i kvasaca kod kefira pripremljenog od mlijeka različitih proizvođača te možemo zaključiti na temelju osjetilne analize da je najpogodnije mlijeko za kefirna zrna kojima raspolažemo mlijeko proizvođača Meggle i Tonka.

Budući da smo utvrdili kako postoje razlike u okusu, mirisu, teksturi, izgledu te u broju mikroorganizama od kojih su neke statistički značajne mislimo da bi u daljnjem istraživanju mogli ponoviti mikrobiološku analizu s mlijekom drugih proizvođača, različitim udjelom masti te kozjim mlijekom, sojinim mlijekom i mlijekom iz mljekomata. Budući da su rezultati osjetilne analize temeljeni na individualnom doživljaju bilo bi dobro provesti osjetilnu analizu s većim brojem članova žirija koji su detaljnije upoznati s okusom, teksturom i mirisom kefira.

Rezultati ovog istraživanja mogli bi doprinijeti napretku u pripremi kefira u kućnoj radinosti, čime bi se spriječilo bacanje neukusnog kefira te osiguralo korištenje najboljeg kefira.

ZAKLJUČCI

- ❖ Ispitivana mlijeka pogodna su za pripremu kvalitetnog kefira jer su svi kefir sadržavali odgovarajući broj laktobacila i kvasaca, a niti jedan kefir nije bio neugodan za kušanje.
- ❖ Količina laktobacila i kvasaca ovisi o razlikama između mlijeka pojedinih proizvođača.
- ❖ Najpogodnija mlijeka za pripremu kefira od kefirnih zrna kojim smo raspolagali su Meggle i Tonka, jer su osjetilnom analizom dobila najbolje ocijene, a mikrobiološka analiza je pokazala vrlo dobre količine laktobacila i kvasaca.
- ❖ Količina kvasaca više utječe na rezultate osjetilne analize nego količina laktobacila.

LITERATURA

Farnworth, E.R., 2005. Kefir - a complex probiotic. Food Science and Technology Bulletin Functional Foods 2: 1-17.
Hong, W.S., Chen, Y.P., Chen, M.J. 2010. The antiallergic effect of kefir laktobacilali. Journal of Food Science 75: 244-253.
Jensterle A., 2011. Raznolikost zajednice laktobacila izoliranih iz autohtonog Istarskog sira. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet (Diplomski rad)



Utječe li mlijeko različitih proizvođača na kvalitetu kefira?

Mentor:
Davda
Sirovina B.

- Kök-Taş T., Seydim A.C., Ozer B., Guzel-Seydim Z.B. 2013. Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. *J Dairy Sci.* 96(2):780-9.
- Meer R., Dietary calcium, milk and the prevention of colon cancer, *Newsletter of IDF*, 1993.
- Miletić S., Kefir. *Hrvatsko mljekarsko društvo*, Zagreb, 1994.
- Otles S., Cagindi O. 2003. Kefir: A probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic. *Aspects Pakistan Journal of Nutrition* 2 (2): 54-59.
- Pogačić T., Šinko S., Zamberlin Š., Samaržija D. 2013. Mikrobni sastav kefirnih zrna. *Mljekarstvo* 63 (1): 3-14.
- Šupe A., Istine i laži o hrani, *Primula*, Zagreb, 2012.
- WonHo, Y., YoungMi N., ChangHan. K., 2003. Antimicrobial and antitumoral activities of Candida kefir TFP 7 isolated from Tibetan fermented milk. *Korean J. Food Sci. Anim. Res.* 23: 80–85.
- Yoon, Y. H., Cho J. K., Baek Y. J., Huh C. S. 1999. Antimutagenic activity of Lactobacillus spp. isolated from kefir, yoghurt and non-starter strains. *Korean J. Anim. Sci.* 41: 39

BOTANIČKO PODRIJETLO MEDA GORNJEG MEĐIMURJA

Ana Marčec, 2.razred

Filip Tomšić, 2.razred

Srednja škola Čakovec, Čakovec

Mentor: Monika Cindrić

SAŽETAK

Med je vrlo cijenjena, ali još uvijek slabo istraжена prehrambena namirnica. Cilj je ovog istraživanja bio dati doprinos poznavanju medova sjeverozapadne Hrvatske. Istraživanje je provedeno na 5 uzoraka te je obuhvaćalo palinološku analizu. Palinološka analiza je provedena determinacijom i prebrojavanjem peludnih zrnaca u medu. Utvrđeno je da sama palinološka analiza nije dovoljna za određivanje botaničkog podrijetla meda, ali je dobra za određivanje geografskog podrijetla.

Ključne riječi: *pelud, zastupljenost peludnih zrnaca,*

UVOD

DEFINICIJA MEDA

Med se koristi u prehrani čovječanstva još od vremena sakupljačkih društava. Kada još nije bila usavršena proizvodnja šećera, med je bio jedino slatilo u ljudskoj prehrani.

Med je gust, viskozni, tekući ili kristalizirani proizvod što ga medonosne pčele (*Apis mellifera* L.) proizvode od nektara medonosnih biljaka, od sekreta živih dijelova biljaka ili od izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka što ih pčele skupljaju, zatim dodaju vlastite specifične tvari, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja (Svečnjak i sur. 2011).

Podjela meda

Med se dijeli na nektarni med (pčele ga proizvode od nektara) i medljikovac (proizvode ga od medne rose koju izlučuju kukci koji se hrane biljnim sokovima). Nektar je tekućina koju proizvode same biljke u nektarijima koji mogu biti smješteni unutar samog cvijeta ili izvan cvijeta. Izlučivanje nektara događa se u nektarijima iz sekretornih stanica. Sastav tekućine, tj. nektara ovisi o biljnoj vrsti. U sastavu meda, osim nektara koji pčele dodatno obogaćuju, nalazi se i pelud. Pelud je jedan od jedinstvenih bioloških proizvoda prirode. To nam dokazuje najinteresantnija harmonija između biljnog i životinjskog carstva zvana pčela. S jedne strane, biljke proizvodnjom peludi osiguravaju život pčelama dok, s druge strane, pčele skupljajući nektar, procesom oprašivanja pridonose preživljavanju biljnog svijeta (Heil 2011, Afik i sur. 2008).

Pelud se po svojoj zastupljenosti u medu dijeli u četiri skupine: jako učestala (više od 45%), učestala (16-45%), rijetka (3-15%), sporadična (manje od 3%) (Anonymus, 2000).

Med se dijeli i s obzirom na botaničko podrijetlo. Prema botaničkom podrijetlu razlikujemo monoflorne, poliflorne i miješane medove. Da bi neki med bio monoflorni, mora sadržavati najmanje 45% peludi podrijetlom od iste vrste, no postoje iznimke: pitomi kesten 85%, lucerna 30%, ružmarin 30%, lipa 25%, kadulja 20%, bagrem 20%, lavanda 20%. Poliflorni med podrijetlom je od različitih biljnih vrsta (Anonymus, 2000).



PALINOLOGIJA

Palinologija je grana botanike koja se bavi proučavanjem fosilne i recentne peludi, njihove strukture, oblika, rasprostranjivanja i preživljavanja u različitim uvjetima okoliša.

Postanak i građa peludi

Riječi pelud i polen dolaze od grčke riječi palino što znači posipati te od latinske riječi pollen što znači prah. Peludna zrnca muške su spolne stanice nastale u peludnicama prašnika biljke presudne za razmnožavanje biljnih vrsta. Sastoji se od živog sadržaja i vanjskog omotača.

Peludno zrnce, tj. muški gametofit sastoji se od nekoliko stanica i stijenke koja ih obavija. Stijenka peludnog zrnca građena je od dvaju slojeva. Eksina je nepropusna i sastoji se od sporopolenina, tvari koja je vrlo rijetka i kemijski iznimno otporna te od male količine polisaharida, a intina je prilično propusna i sastavljena od celuloze. No, eksina ipak ne pokriva intinu u potpunosti jer bi se time onemogućilo oprašivanje biljaka pa na njoj postoje otvori kroz koje iz peludnog zrnca putuje jezgra s muškim nasljednim materijalom do sjemenog zametka drugog cvijeta ili druge biljke (Svečnjak i sur. 2011).

Primjena metode analize peludi

Unatoč sitnim dimenzijama, peludna su zrnca vrlo otporna na okolišne uvjete pa je njihova iskoristivost u različitim znanstvenim disciplinama i strukama prilično česta. Predmet su istraživanja aerobiologije, melisopalinologije, forenzike, polinacijske ekologije, paleopalinologije te mnogih drugih znanstvenih disciplina. Osim u medu, peludna se zrnca mogu proučavati i u drugim pčelinjim proizvodima (propolis) te se ti rezultati mogu koristiti u mnogim aspektima znanosti, a ne nužno samo u potvrđivanju geografskog ili botaničkog podrijetla proizvoda (Svečnjak i sur. 2011).

DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA

Prva palinološka istraživanja u svijetu počela su u Skandinaviji početkom 19. st. Kako nisu bila pisana na svjetskim jezicima, tekla su vrlo sporo. Tek se početkom 20. st. te metode počinju širiti, prvo Europom, a zatim i ostatkom svijeta (Moore i Webb 1978).

Palinološka istraživanja u Hrvatskoj počela su sedamdesetih godina prošlog stoljeća te su se uglavnom svodila na palinotaksonomska proučavanja biljnih populacija, determinaciju vrsta na temelju morfologije peludi te aerobiološke analize (Volarić-Mršić 1970, Bedalov 1985, Lovašen-Eberhardt i sur. 1987). Današnja istraživanja uglavnom su usmjerena na palinološka istraživanja (Mitić i Halbritter 2008), aerobiološke studije (Hrga i sur. 2009) i melisopalinološka istraživanja (Svečnjak i sur. 2011, Kenjerić i sur. 2008). Melisopalinološka istraživanja u pravilu se kombiniraju s nekim oblikom kemijskog istraživanja (Hudina 2012).

OBRAZLOŽENJE TEME

Med se koristi u ljudskoj prehrani još od vremena sakupljačkih društava i bio je jedino slatilo u ljudskoj prehrani sve dok nije izumljena i usavršena tehnologija proizvodnje šećera. Ove činjenice potvrđuju da je med oduvijek bio iznimno važna i cijenjena namirnica. Danas je šećer uvelike zamijenio med kao sredstvo zaslađivanja, ali med postaje sve popularniji zbog svojih povoljnih utjecaja na ljudsko zdravlje.



Važno mjesto u sastavu meda ima i pelud. Pelud vrlo dobro djeluje protiv slabokrvnosti, normalizira rad probavnih organa, popravlja apetit i radnu sposobnost, snižava krvni tlak i povećava sadržaj hemoglobina u krvi.

Sastav peludi u medu odražava botaničko i geografsko podrijetlo meda, a ovisi o tome koje se medonosne biljke nalaze u okruženju košnica. Poznato je da pčele mogu sakupljati nektar i pelud u promjeru od 5 do 7 kilometara oko košnice pa pomoću sastava peludnih zrnaca u medu možemo vidjeti koje medonosne biljke rastu u okruženju košnice.

S obzirom na to da su dosadašnja istraživanja hrvatskih medova malobrojna te da mnogo toga o njima još nije poznato, mogućnosti za istraživanje ove teme velike su. No, imajući na umu veličinu uzorka i mogućnost provedbe eksperimentalnog dijela istraživanja u školskim uvjetima, kao glavne ciljeve ovog rada izabrali smo:

- provesti peludnu (palinološku) analizu uzoraka meda
- odrediti botaničko podrijetlo uzoraka meda
- analizirati botaničko podrijetlo s nazivom uzorka meda

Naše pretpostavke su:

- imenovanje vrste meda na etiketi (bagremov ili kestenov) zaprimljenih uzoraka meda odgovarat će njegovu botaničkom podrijetlu
- u uzorcima meda bit će dovoljno peludnih zrnaca za kvalitetnu analizu
- med kontinentalnog i mediteranskog područja razlikuje se sastavom peludnih zrnaca pa je moguće odrediti geografsko podrijetlo meda

Ovim bismo radom željeli doprinijeti boljem poznavanju međimurskih medova kao namirnice koja je sve više eksponirana kao zdrava i važna.

MATERIJAL I METODE RADA

UZORCI MEDA

Istraživanje je provedeno na četiri uzorka meda proizvedenog 2014. godine. Četiri uzorka potječu iz gornjeg Međimurja, a jedan je uzorak iz Dalmacije i on je poslužio kao kontrola. Tablica 1. prikazuje podatke o uzorcima koji su zabilježeni prilikom prikupljanja. Četiri uzorka meda prikupljena su izravno od pčelara, a kontrolni je uzorak kupljen na lokalnoj tržnici.

Uzorci su do trenutka obrađivanja pohranjeni u staklene bočice zapremnine 200 mL koje su zaklopljene aluminijskim poklopcima te pohranjene na tamnom i prozračnom mjestu pri sobnoj temperaturi.

PELUDNA ANALIZA

Izrada preparata

Da bi peludna analiza meda bila moguća, potrebno je pripremiti mikroskopske preparate na kojima će se prebrojavati peludna zrnca.



Kao standardna metoda za pripremu preparata u specijaliziranim laboratorijima za ispitivanje kakvoće meda koristi se sljedeći postupak objavljen u Pravilniku o kakvoći meda: odvaže se 10 grama izmiješanog meda od svakog uzorka i otopi u 20 ml destilirane vode. Tako pripremljena homogena smjesa centrifugira se 15 minuta pri 3700 okretaja u minuti nakon čega se dobije talog u kojem su peludna zrnca i supernatant koji se ukloni pipetom. Talog se prenese na predmetno stakalce i ravnomjerno razmaže po površini te ostavi da se suši 10 minuta na 45 °C, zatim se kapne 1 kap gelvatola (smjesa alkohola gelvatola, glicerina, fuksina i destilirane vode) te pokrije pokrovnim stakalcem. Tako pripremljen uzorak spreman je za determinaciju i prebrojavanje.

S obzirom na to da u školi nemamo centrifugu, odlučili smo se za modificiranu metodu koju smo upoznali na radionicama istraživačkog učenja na PMF-u pod vodstvom naše mentorice. Na predmetno se stakalce kapne jedna kap glicerola na koju se uz pomoć staklenog štapića ravnomjerno razmaže uzorak meda po površini predmetnice. Uzorak meda važno je prethodno dobro izmiješati staklenim štapićem 1 minutu. Kapljica glicerola i uzorka meda pokrije se predmetnim stakalcem. Pomoću prozirnog laka za nokte zalijepi se pokrovno stakalce za predmetno kako bi se dobio polutrajni preparat pogodan za višekratnu analizu. Za svaki uzorak pripreme se tri preparata i označi ih se etiketom.

Mikroskopska analiza peludnih zrnaca u uzorcima

Prebrojavanje i determinacija peludnih zrnaca provedena je prema protokolu koji su u svome radu prikazali Von der Ohe i sur. (2004). Na svakom je preparatu prebrojavano po 300 peludnih zrnaca (Anonymus 2009). Prebrojavanje i determinacija provedeni su na svjetlosnom mikroskopu Olympus DP 12 pri povećanju od 400x. Peludna zrnca determinirana su do razina porodica ili roda dok su ona specifična determinirana do razine vrste. Determinacija peludnih zrnaca izvršena je prema priručniku Von der Ohe i Von der Ohe (2000) na osnovi veličine i oblika peludnih zrnaca te građe vanjske stijenke (eksine) peludnih zrnaca.

ANALIZA PODATAKA

Svi mikroskopski preparati fotografirani su tijekom prebrojavanja i determinacije pod svjetlosnim mikroskopom.

Za svaki uzorak meda određena je zastupljenost pojedinih peludnih zrnaca u postotcima i to na temelju srednje vrijednosti tri repetitije istog uzorka za koje je napravljen t-test radi određivanja ima li statističkih odstupanja između tri repetitije istog uzorka.

T-test je statistički postupak za određivanje statističke značajnosti razlike između dva ili više uzoraka, tj. dvije aritmetičke sredine. T-test promatra odnos razlike između dviju aritmetičkih sredina, i pogreške te razlike. Što je razlika više puta veća od svoje pogreške to joj više vjerujemo. Ako kažemo da je neka razlika statistički značajna, onda smo zapravo ustvrdili da razlika, koja je nađena, bez obzira na veličinu razlike, nije slučajna, već da razlika vrlo vjerojatno postoji i među uzorcima. Naprotiv, ako tvrdimo da neka razlika nije statistički značajna, to znači da razlika koju smo prilikom našeg mjerenja dobili, može biti i slučajna posljedica variranja uzorka, a da među populacijama, kojima ti uzorci pripadaju, možda i nema nikakve razlike. Korišten je online T-test (Anonymus 2014).

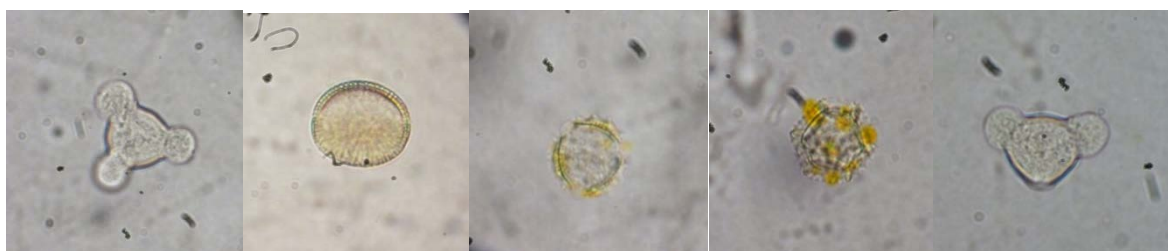
Na osnovi broja i frekvencije peludi u uzorcima, peludna su zrnca svrstana u četiri skupine: jako učestale, učestale, rijetke i sporadične (Louveaux i sur. 1978).

Napravi se usporedna analiza bagremovih medova i kestenovih medova s kaduljinim te se podatci prikažu tablično.

REZULTATI

SASTAV PELUDNIH ZRNACA U MEDU

U pripremljenim preparatima zabilježili smo desetak različitih vrsta peludnih zrnaca. Fotografije preparata peludnih zrnaca (Slika 1) prikazuju kako izgledaju peludna zrnca nekih od zabilježenih vrsta u uzorcima medova.



Slika 1. Fotografije preparata nekih od zabilježenih peludnih zrnaca u uzorcima medova (povećanje 400x). *Robinia pseudacacia*, *Castanea sativa*, *Asteraceae*, *Ericaceae*, *Pinus* sp.

Determinacijom i prebrojavanjem peludnih zrnaca dobiveni su podatci o botaničkom podrijetlu medova (Tablica 2).

Tablica 2: Rezultati palinološke analize medova prikazani kao postotak od 300 prebrojenih zrnaca za svaki uzorak.

UZORAK	1	2	3	4	5
<i>Robinia pseudacacia</i> L.	30	5	15	14	
<i>Castanea sativa</i> Miller	55	88	67	83	
<i>Asteraceae</i>	4	2	3		
<i>Pinus</i> sp.	1				
<i>Fabaceae</i>			6	1	
<i>Rosaceae</i>	10	3	1	1	
<i>Acer</i> sp.		2		1	
<i>Salix</i> sp.			2		
<i>Ericaceae</i> sp.					10
<i>Salvia</i> sp.					24
<i>Poaceae</i>					36
neidentificirano			6		30

Na temelju podataka o sastavu i udjelima peludnih zrnaca u uzorcima, svakom je uzorku pripisana kategorija u koju ga svrstavaju podatci o botaničkom podrijetlu, odnosno prema *Pravilniku o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda* (Tablica 3).



Tablica 3. Klasifikacija analiziranih uzoraka meda s obzirom na botaničko podrijetlo i *Pravilnik o kakvoći meda prema sastavu i udjelima peludnih zrnaca.*

UZORAK	zaprimljen kao	predominantna pelud > 45%	botaničko podrijetlo	prema <i>Pravilniku</i>
1	bagrem	kesten	kestenov	bagremov
2	kesten	kesten	kestenov	kestenov
3	bagrem	kesten	kestenov	cvjetni
4	kesten	kesten	kestenov	kestenov
5	kadulja	nema	cvjetni	kaduljin

Uspoređujući repeticije svakog uzorka T-testom dobili smo vrijednosti P veće od 0,05.

RASPRAVA

Analiza bioloških uzoraka vrlo je kompleksan proces. Za kvalitetnu je analizu potrebno u obzir uzeti veći broj varijabli kako bi se one mogle međusobno kombinirati i objasniti rezultate, no u ovom je istraživanju proučavan samo sastav peludnih zrnaca kako bi se pokušao jednostavnom metodom opisati uzorak meda.

Svaki uzorak dobiven od pčelara bio je deklariran. Prema osobno opaženim senzoričkim svojstvima (miris, okus, boja), deklaracija je odgovarala onome što se nalazilo u bočicama. U svim je preparatima bilo dovoljno zrnaca da se izvrši prebrojavanje. Uspoređujući repeticije svakog uzorka T-testom dobili smo vrijednosti P veće od 0,05. što prema kriterijima za određivanje stupnjeva slobode znači da razlika nije statistički značajna (Anonymus 2015).

Nakon provedene analize pokazalo se da dva uzorka (br. 1 i 3) ne bi mogla biti svrstana u deklariranu kategoriju bagremova meda jer prema sastavu peludnih zrnaca pripadaju drugoj kategoriji (kestenov). Međutim, prema Pravilniku o kvaliteti meda samo jedan med ne odgovara deklariranoj kategoriji (Tablica 3) (Anonymus 2000).

Najčešći je problem bio prevelik broj kestenovih zrnaca u medovima koji senzorički pripadaju u kategoriju bagremovih medova (Tablica 2). Razlog je ovoj pojavi činjenica da pčelari uvijek imaju manju ili veću zalihu okvira s izgrađenim saćem koje mogu upotrijebiti u slučajevima kada je paša dobra pa je i unos nektara u košnicu velik. To se obično događa u bagremovoj paši pa pčelari u košnice dodaju okvire koje su izvadili iz košnica prethodne jeseni, prije uzimljanja pčela. Na tim okvirima uvijek ostane nešto peludi koju su pčele skupile kako bi njome hranile prvo proljetno leglo dok su još uvjeti hladni i paša oskudna (Hudina 2012).

Prva proljetna peludna paša je lijeska, ali kako ona cvate vrlo rano, nerijetko je još hladno. Tada pčele koriste zalihe peludi koje su prikupile prethodne sezone. Kako je zadnja obilna paša u većini sezona upravo kestenova, onda se u okvirima peludnjacima (saće koje pčele ispunjavaju samo peludom) nalaze velike količine kestenove peludi. Imajući na umu činjenicu da u kestenovoj paši pčele mogu skupiti i do 15 kg peludi po zajednici (što je iznimno mnogo), za očekivati je da jedan dio te peludi ostane neiskorišten do proljeća pa ju pčele mogu koristiti u prehrani legla u početku sezone.



Uz to, jedan se dio nastavaka s okvirima sa saćem prije zimovanja uklanja iz košnica kako bi se smanjio prostor u košnici koji će pčele morati grijati tijekom zime. U proljeće kada se vremenski uvjeti poprave, najprije počinje cvatnja vrba, a zatim počinju cvjetati i voćke. Tada se povećava unos nektara i peludi u košnice te pčele počinju proizvoditi prvi proljetni med (Katalinić i sur. 1968). Ukoliko su pčele dotad uspjele potrošiti sve zalihe prošlogodišnje peludi nakon vrcanja proljetnog meda, desetak dana prije početka cvatnje bagrema, u medu bi trebala prevladavati pelud voćaka (porodica Rosaceae), vrba i topola (porodica Salicaceae), maslačaka (porodica Asteraceae) i dr. Međutim, ukoliko pčele nisu uspjele potrošiti sve zalihe prošlogodišnje peludi u tom medu, osim navedenih peludi biljaka koje cvatu ranije, pojavit će se i peludna zrnca biljaka koje cvatu u kasno ljeto pa sve do kasne jeseni kada dominira kestenova pelud. Prema tome, iako je sav kestenov med (zato što je loš za zimovanje pčela) izvađen iz košnica još krajem lipnja ili početkom srpnja prethodne godine, u proljetnom će se medu pojaviti velik broj peludnih zrnaca kestena te će na melisopalinološkoj analizi biti okarakteriziran kao kestenov med.

Nismo imali ni jedan proljetni med za analizu, ali se, zbog gore navedenih razloga, peludi porodica Rosaceae, Asteraceae i Fabaceae uz kestenova zrnca nalaze u našim uzorcima bagremova meda.

Postavlja se pitanje kako se onda kestenova peludna zrnca mogu naći u bagremovu medu iako kesten cvate oko mjesec dana nakon bagrema, tj. kada se bagremov med već izvadi iz košnice? Postoje dva razloga. Prvi je razlog taj što nije u svim sezonama ni u svim krajevima proljetna paša dovoljno obilna da bi se proizvele količine cvjetnog meda koje bi bile isplative za vrcanje pa se te manje količine cvjetnog meda ostavljaju u košnicama. Taj se med onda izvadi zajedno s bagremovim medom krajem svibnja ili početkom lipnja. Drugi je pak razlog pojave kestenovih peludnih zrnaca u bagremovu medu taj što je bagremova paša najobilnija paša u većini krajeva kontinentalne Hrvatske (Šimić 1980, Katalinić i sur. 1968). Zato se u bagremovoj paši često dogodi da pčelar u košnice mora dodavati dodatne okvire s izgrađenim saćem kako bi pčelama osigurao dovoljno prostora za skladištenje prikupljena nektara. Problem je kod bagrema kao medonosne biljke što, unatoč relativno visokoj produkciji nektara, ima relativno nisku produkciju peludi. Zbog toga je dovoljno da se u medu nalazi 20% peludnih zrnaca bagrema kako bi se med mogao klasificirati kao monoflorni bagremov med (Anonymus 2009). U skladu s rezultatima Hudina (2012.) postoje korelacije u rezultatima istraživanja. Autor rada navodi kako i u njegovim uzorcima meda deklariranog kao bagremov dolazi do odstupanja botaničkog podrijetla meda s nazivom pa možemo zaključiti kako je čistoća bagremovih medova zaista upitna. Kestenovi medovi pokazuju vrlo slične rezultate botaničkog podrijetla čemu je vjerojatno razlog što je ta paša iznimno bogata peludi bez obzira na geografsku udaljenost.

Med kadulje nije sadržavao peludna zrnca karakteristična za kontinentalne medove što je u skladu i s našom pretpostavkom.

Iz Tablice 3 vidljivo je da u uzorku 1 (bagrem) ima peludi borova iako oni nisu tipična porodica istraživanog područja. Vjerojatno je to zbog toga što u bližoj okolini ima neko stablo borova koje su ljudi zasadili.

S obzirom da nismo koristili standardu metodu kojom se određuje botaničko podrijetlo meda, ne možemo sa stopostotnom sigurnošću tvrditi da uzorak bagrema 3. nema dovoljno bagremovih



zrnaca. Moguće su pogreške prilikom pripreme preparata kao i mogućnost da su se zrnca istaložila u spremniku gdje pčelar drži svoj med, a nama je dao gornji dio gdje je manje zrnaca (Katalinić i sur. 1968). No, sama modificirana metoda pokazala se dovoljno dobrom da odredimo koja su zrnca jako učestala, a koja manje zastupljena.

Analizom ovih uzoraka koji potječu s dvije lokacije, dobili smo prilično različite vrijednosti udjela pojedinih peludnih zrnaca za što bi razlog mogao biti raznolikost paše pčela. U nekim budućim istraživanjima bilo bi zanimljivo istražiti koliko se i same košnice razlikuju od košnica u udjelu zrnaca ili usporediti udjele domaćih i kupovnih medova. Vjerujemo da smo ovim našim radom barem malo pridonijeli boljem poznavanju medova gornjeg Međimurja i dali podlogu za neka buduća istraživanja.

ZAKLJUČCI

Na temelju provedene palinološke analize istraživanih uzoraka medova dobiveni su odgovori na pitanja postavljena u ciljevima ovog rada:

- Pregledom svih preparata peludnih zrnaca izoliranih iz uzoraka medova utvrđeno je da u svima ima dovoljno zrnaca za analizu i da prevladava pelud kestena.
- Deklariranim kestenovim medovima odgovara njihovo botaničko podrijetlo, dok je botaničko podrijetlo bagremovih medova upitno.
- Melisopalinoška analiza nije dovoljna za precizno određivanje botaničkog podrijetla medova, ali je dovoljna za određivanje njihova geografskog podrijetla (npr. kontinentalni i mediteranski medovi).

LITERATURA

- Afik, O., Dag, A., Shafir, S. (2008): Honeybee, *Apis mellifera*, round dance is influenced by trace components of floral nectar. *Animal Behaviour* 75 (2): 371-377.
- Anonymus (2000): Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda. Narodne novine 20/2000.
- Anonymus (2009): Pravilnik o medu. Narodne novine 93/2009.
- Anonymus, T-test calculator, GraphPad, URL: <http://graphpad.com/quickcalcs/ttest1.cfm> (pristupljeno 18.2. 2015).
- Bedalov, M. (1985): Scanning electron microscopy of pollen grains of some species of the genus *Arum* (Araceae). *Plant Systematics and Evolution* 149:211-216.
- Heil, M. (2011): Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends in Plant Science* 16 (4): 191-200.
- Hrga, I., Mitić, B., Alegro, A., Dragojlović, D., Stjepanović, B., Puntarić, D. (2010): Aerobiology of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in North-West Croatia. *Collegium Antropologicum* 34 (2): 501-507.
- Hudina, T. (2012): Palinološka analiza i određivanje sadržaja kemijskih elemenata medova sjeverozapadne Hrvatske, Diplomski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Katalinić, J., Loc, D., Lončarević, S., Peradin, L., Šimić, F., Tomašec, I. (1968): Pčelarstvo. Nakladni zavod Znanje, Zagreb.
- Kenjerić, D., Primorac, Lj., Bubalo, D., Čačić, F., Corn, I. (2008): Palynological and physicochemical characterisation of Croatian honeys-Christ's horn (*Paliurus spina christi* Mill.) honey. *Journal of Central European Agriculture* 9(4): 689-696.
- Lovašen-Eberhardt, Ž., Martinis, Z., Tuđa, M. (1987): Trihomografske i palinomorfološke karakteristike hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u odnosu na druge hrastove u Jugoslaviji. *Glasnik za šumske pokuse, posebno izdanje* 3: 347-355.
- Mitić, B., Halbritter, H. (2008): Pollen morphology of *Degenia Velebitica* (Degen) Hayek and *Sibiraea altaiensis* (Laxm.) C. K. Schneid. subsp. *croatica* Degen –rare Croatian endemic plants from Velebit Mountains. *Periodicum Biologorum* 110(2): 181-185.
- Moore, P.D., Webb, J. A. (1978): An illustrated guide to pollen analysis. Hodder and Stoughton, Bungay.
- Svečnjak, L., Biliškov, N., Bubalo, D., Barišić, D., (2011): Application of infrared spectroscopy in honey analysis. *Agriculture Conspectus Scientificus* 76 (3): 191-195.
- Šimić, F. (1980): Naše medonosne bilje. Znanje, Zagreb.
- Volarić-Mršić, I. (1970): Istraživanje polena u uzduhu u nekim krajevima Hrvatske. *Acta Botanica Croatica* 29: 83-94.
- Von der Ohe, W., Persano Oddo, L., Piana M. L., Merlot, M., Martin, P. (2004): Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie* 35:18-25,



Von der Ohe, K., Von der Ohe, W. (2000): Celle's melissopalynological collection. Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde, Celle.

MEĐUOVISNOST NAČINA SKLADIŠTENJA, KLIJAVOSTI I PRISUTNOSTI MIKOTOKSINA ZEARELENONA U KUKURUZU (*Zea mays* L.)

Alojzije Košić, 2. razred

Sara Sedmak, 2. razred

Gimnazija Josipa Slavenskog Čakovec, Čakovec

Mentor: Tanja Šalamon

SAŽETAK

Ideja rada bila je proučiti kako različiti načini skladištenja kukuruza utječu na njegovu klijavost, vlažnost, prisutnost i količinu mikotoksina zearalenona u njemu te kako klijavost, vlažnost te prisutnost i količina zearalenona koreliraju međusobno. U istraživanju su korišteni uzorci kukuruza iz triju vrsta skladišta podijeljeni u 4 skupine: skupina A (uzorci iz tradicionalnih kukuružnjaka), B1 (uzorci s dna hrpe nemehaniziranih podnih skladišta), B2 (uzorci s vrha hrpe nemehaniziranih podnih skladišta) i kontrolna (K) skupina (uzorci iz silosa). Svaka skupina sadržavala je tri serije ponavljanja. Zrna su posijana i u kabinetu biologije Gimnazije Josipa Slavenskog Čakovec izložena istim uvjetima. Nakon 30 dana određen je postotak klijavosti svakog uzorka. S obzirom na to da su u posudicama tijekom praćenja klijanja kukuruza uočene plijesni, utvrđena je korelacija plijesni s ispitivanim parametrima. U uzorcima skladištenim u tradicionalnim kukuružnjacima najveći je postotak klijavosti kukuruza, najveća je vlažnost kukuruza te najveća količina plijesni i zearalenona u kukuruzu. Ne postoji razlika u vlažnosti, klijavosti i količini zearalenona u uzorcima s dna i vrha nemehaniziranih podnih betonskih skladišta. U uzorcima iz silosa najmanja je klijavost i vlažnost kukuruza, zastupljenost plijesni te količina zearalenona. Razlog tome je sušenje kukuruza prije siliranja, ali i kontrolirani uvjeti u silosima. Svi su uzorci ispitivani na prisutnost zearalenona pozitivni. Prema Preporuci komisije Europske zajednice o prisutnosti zearalenona u proizvodima namijenjenim za prehranu životinja, ispravni su svi ispitivani uzorci, dok je prema Uredbi komisije Europske zajednice o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani čovjeka, ispravno 7 od 17 ispitivanih uzoraka. Dobiveni rezultati upućuju na međusobnu ovisnost načina skladištenja, klijavosti, vlažnosti, količine mikotoksina zearalenona te prisutnosti i učestalosti pojavljivanja plijesni u uzorcima kukuruza. Suprotno očekivanjima i uvriježenom mišljenju tradicionalni način skladištenja pokazuje moguće kontaminacije plijesnima i mikotoksinima, osobito u vlažnijim godinama. Takva hrana, kontaminirana plijesnima i mikotoksinima, može predstavljati ozbiljne rizike za zdravlje ljudi i životinja pa je i takozvanu „domaću zdravu hranu“ nužno kontrolirati.

Ključne riječi: *tradicionalni kukuružnjak, nemehanizirano podno skladište, silos, plijesan, mikotoksin, zearalenon, kukuruz, klijavost*

UVOD

Nedavna afera s kontaminacijom mlijeka i mliječnih proizvoda aflatoksinima pokrenula je pitanje je li hrana proizvedena u domaćinstvima uistinu zdrava. U hrvatskim ruralnim područjima česta je prehrana stoke kukuruzom koji zbog nepravilnog skladištenja uz neadekvatne uvjete može biti kontaminiran plijesnima i mikotoksinima što može predstavljati ozbiljne rizike za zdravlje ljudi i životinja. Izrazito je važna provjera svih pa i domaćih proizvoda namijenjenih konzumaciji pa smo zbog toga odlučili istražiti je li „domaća zdrava hrana“ uistinu uvijek najbolji odabir.

Kukuruz (*Zea mays* L.)

Kukuruz (*Zea mays* L.) je jednogodišnja biljka iz porodice trava (Poaceae) (Domac, 1994). Kukuruz ima veliku gospodarsku važnost jer se danas od njega proizvodi više od 500 različitih industrijskih prerađevina i to u prehrambenoj industriji, industriji alkohola, farmaceutskoj, kozmetičkoj te tekstilnoj industriji. Koristi se i za ljudsku prehranu, naročito u mlinarskoj industriji (Majdak i sur., 2001), a u prehrani stoke koristi se u obliku suhog zrna, klipa ili cijele biljke (silaza). Kukuruzna silaza danas predstavlja najvažniju silažnu kulturu u Republici Hrvatskoj i diljem svijeta (Zadravec i sur.,



2013).

Skladištenje

Glavni su zadatci skladištenja ratarskih proizvoda sačuvati proizvod bez gubitka kvalitete i mase, povisiti kakvoću proizvoda te smanjiti troškove rada i sredstava po jedinici proizvoda. Vrijeme čuvanja ovisi o biološkim i mehaničkim čimbenicima. Biološki su čimbenici disanje, proklijavanje, samozagrijavanje, insekti i grinje, štete od glodavaca i ptica te mikroorganizmi. Ozljede, lom zrna i rasipavanje pripadaju mehaničkim čimbenicima koji mogu umanjiti kvalitetu skladištenog proizvoda. Pri čuvanju sjemena osobito su važni temperatura i vlažnost sredine u kojoj se sjeme čuva (Dubravec i Regula, 1995). Najpovoljnija je temperatura za skladištenje u rasponu od -5°C do $+5^{\circ}\text{C}$ (Rozman i Liška, 2012). Ako se sjeme s većim sadržajem vode čuva u neprovjetреноj prostoriji, ubrzano dolazi do razmnožavanja mikroorganizama, povećanja disanja, a time smanjenja sadržaja rezervnih tvari. Zagrijavanjem sjemena dolazi do štetnih promjena i smanjenja klijavosti (Dubravec i Regula, 1995). Preporučena količina vlage u zrnu kukuruza je manje od 15% njegove mase, odnosno, ako je količina vode u sjemenu veća od 15% njegove mase, sjeme će početi svoju fiziološku aktivnost (Rozman i Liška, 2012). Pri sušenju sjemena smanjuje se sadržaj vode, a mali postotak vode izaziva gubljenje životne sposobnosti sjemena (Dubravec i Regula, 1995). Kod skladištenja kukuruza možemo razlikovati skladištenje u silosima, nemehaniziranim podnim skladištima i kukuružnjacima. Kukuruz se unutar silosa čuva u obliku zrna, što omogućuje sušenje u sušarama, prozračivanje i konzerviranje vlažnog zrna. Postoje silosi u kojima postoji mogućnost određivanja temperature. U takvim se silosima temperatura smanjuje do 5°C da bi se onemogućio daljnji razvoj i reprodukcija organizama koji štete ili bi mogli naštetiti skladištenom proizvodu (Rozman i Liška, 2012). Nemehanizirana podna skladišta su tavani, žitnice te velika podna skladišta. Kukuruz se čuva u zrnu i u klipovima. Ne postoji mogućnost reguliranja temperature te provjetravanja, što često dovodi do pojave mrtve zone u kojoj uslijed nedovoljne ventilacije dolazi do razvoja plijesni i kvarenja proizvoda (Rozman i Liška, 2012). Kukuružnjaci su tradicionalni način skladištenja pri čemu se kukuruz čuva u klipu. Sušenje se provodi prirodnim putem pri čemu se kukuružnjak usmjerava okomito na pravac vjetra, no ipak često dolazi do kvarenja kukuruza zbog previsoke vlage. Klipove napadaju i grinje, kukci i glodavci (Kalinović i Ivezić, 1994).

Klijanje

Sjemenke kliju u točno određenim uvjetima okoliša. U prirodnim uvjetima giberelini u sjemenkama vjerojatno predstavljaju vezu između okolišnog signala i početka rasta embrija (Pevalek-Kozlina, 2003). Voda je važna za klijanje jer nakon inhibicije vodom, otpuštanje giberelina iz embrija predstavlja signal za prekid dormancije i početak klijanja. Da bi sjeme kukuruza počelo klijati, treba upiti oko 45% vode, a vlažnost tla u kojoj se sjeme nalazi trebala bi biti između 70 i 80% od maksimalnog vodnog kapaciteta. Minimalna temperatura za klijanje sjemena kukuruza iznosi 8°C (Zovkić, 1985). Ako sjeme ne dobiva dovoljno kisika, dolazi do akumulacije ugljikova dioksida što inhibira klijanje, a ako njegov udio prijeđe 30%, sjeme odumire (Anonymus, 2009).

Mikotoksini

Mikotoksini su sekundarni metaboliti plijesni te predstavljaju prijetnju zdravlju ljudi i životinja. Prema FAO-u, u svijetu je oko 25% hrane kontaminirano mikotoksinima. U hranidbeni lanac čovjeka



mikotoksini ulaze preko kontaminiranih životinjskih proizvoda što je najčešće posljedica konzumiranja kontaminirane krme. Većina mikotoksina kemijski je stabilna pa preživljava skladištenje, preradu te visoke temperature (Šarkanj i sur., 2010). Zearalenon (ZEA, sinonim F-2 toksin) jest estrogeni (fitoestrogeni) nesteroidni mikotoksin. Ime je dobio prema plijesni Giberellazeae iz koje je izoliran 1962. godine (Šarkanj i sur., 2010). Osim u kukuruзу može se naći u sijenu, stočnoj hrani, pšenici, ječmu, soji, brašnu, sladu, pivu i mlijeku. Prema Preporukama komisije Europske zajednice o prisutnosti zearalenona u proizvodima namijenjenim za prehranu životinja, preporučena granica je 2000 µg/kg (EuropeanCommission, 2006.a), a u hrani čovjeka 350µg/kg (EuropeanCommission, 2006. b). Zearalenon izaziva hormonalne smetnje kod ljudi (Šegvić Klarić i sur., 2009).

Zbog indicija o karcinogenosti ZEA za životinje, IARC ga je svrstala u skupinu triju toksičnih spojeva (Šarkanj i sur., 2010). Strategija smanjenja rizika je izbjegavanje konzumiranja tzv. zdrave hrane pripravljene od žitarica kontaminiranih sa ZEA.

OBRAZLOŽENJE TEME

Prema ovogodišnjim podacima Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ-a), razdoblje od kolovoza do listopada 2014. obilježila je ekstremna količina padalina, a temperature su bile od visokih do normalnih. Takvi klimatski uvjeti doprinijeli su mogućem razvitku plijesni te mikotoksina u različitim ratarskim kulturama. Osim vremenskih prilika tijekom rasta, sazrijevanja i žetve, od velike je važnosti i način skladištenja žitarica koji utječe na njihovu vlažnost, klijavost te razvoj plijesni, proizvođača mikotoksina. Mikotoksini su toksični metaboliti plijesni koji narušavaju zdravlje ljudi i životinja te dovode do znatnih ekonomskih gubitaka (Mašek i Šerman, 2006). Poseban problem predstavlja mogućnost prijenosa mikotoksina i njihovih metabolita na ljude putem jestivih biljnih i životinjskih proizvoda koji akumuliraju mikotoksine. Prvi podatci o hrani kontaminiranoj plijesnim datiraju još iz Kine, od prije 5000 godina. Otkrićem aflatoksina (Allcroft i Cannaghan, 1963) nakon pojave „X-bolesti“ u Engleskoj i znatnim zanimanjem za mikotoksine došlo se do spoznaje da se radi o novome, značajnom znanstvenom području (Šarkanj i sur., 2010). Posljednjih godina sve se češće spominju kontaminacije hrane, npr. mlijeka i mliječnih proizvoda aflatoksinima. Uzrok ovih problema može biti kontaminirana stočna hrana, npr. kukuruz koji se kod nas često koristi u prehrani stoke, a do kontaminacije može doći zbog skladištenja u neadekvatnim uvjetima. Zbog toga smo odlučili istražiti je li „domaća zdrava hrana“ uistinu uvijek najbolji odabir.

Cilj istraživanja bio je utvrditi kako načini skladištenja kukuruza (kukuružnjak, silos, nemehanizirana podna betonska skladišta) utječu na njegovu vlažnost, klijavost, prisutnost i količinu mikotoksina zearalenona (ZON/ZEA) u njemu te kako klijavost, vlažnost te prisutnost i količina zearalenona koreliraju međusobno. U skladu s postavljenim ciljevima istraživanja, hipoteze su sljedeće:

- u uzorcima skladištenim u tradicionalnim kukuružnjacima očekuje se najveći postotak klijavosti kukuruza, a u silosima najmanji
- najveći sadržaj vlage očekuje se u uzorcima skladištenim u nemehaniziranim podnim skladištima, a u silosima najmanji
- očekuje se da u uzorcima iz silosa nema mikotoksina zearalenona, dok bi količina zearalenona bila najveća u nemehaniziranim podnim skladištima



- očekuje se razlika u vlažnosti, klijavosti i količini zearalenona u uzorcima uzetim s vrha i dna hrpe kukuruza skladištenog na nemehaniziranim podnim skladištima
- očekuje se međuovisnost klijavosti uzorka, vlažnosti uzorka i prisutnosti te količine zearalenona.

Istraživanje je provedeno u zimskom razdoblju 2014./2015. godine u kabinetu biologije Gimnazije Josipa Slavenskog Čakovec, a neka su mjerenja provedena u Bioinstitutu (Bioinstitut d. o. o. za usluge u zdravstvu i veterinarstvu, Čakovec).

MATERIJAL I METODE RADA

Uzimanje i priprema uzoraka

Uzorci kukuruza za ovo istraživanje uzgojeni su, skladišteni i prikupljeni na području sjeverozapadne Hrvatske. U silosima i nemehaniziranim podnim betonskim skladištima kukuruz je skladišten u zrnju, a u kukuružnjacima u klipju. Zrna kukuruza ručno su odstranjena s oklaska. Pri uzorkovanju korištene su zaštitne rukavice. Uzorkovanje je izvršeno slučajnim odabirom s četiriju različitih mjesta u skladištu te su prikupljeni uzorci zajedno stavljeni u istu PVC vrećicu na koju se stavlja etiketa s oznakom uzorka. Sadržaj vrećice ručno se promiješa te se svaka vrećica zaveže konopom na koji se također stavi etiketa uzorka (Ugarčić – Hardi i sur., 2004).

Za potrebe istraživanja uzorci kukuruza podijeljeni su u četiri skupine, tri eksperimentalne (A, B1, B2) i jednu kontrolnu (K). Svaka se skupina sastojala od deset uzoraka te je sadržavala tri serije ponavljanja.

Skupine su podijeljene prema načinu skladištenja kukuruza:

1. skupina (A) – 10 uzoraka kukuruza skladištenih u tradicionalnim kukuružnjacima
2. skupina (B1) – 10 uzoraka kukuruza skladištenih u nemehaniziranim podnim betonskim skladištima (tavani, garaže) na dnu hrpe kukuruza
3. skupina (B2) – 10 uzoraka kukuruza skladištenih u nemehaniziranim podnim betonskim skladištima (tavani, garaže) na vrhu hrpe kukuruza
4. kontrolna (K) – 10 uzoraka kukuruza skladištenih u različitim silosima.

Mjerenje sadržaja vlage u kukuruзу

Analiza sadržaja vlage u uzorcima kukuruza provedena je u Bioinstitutu. Sadržaj vlage određuje se pomoću uređaja NIR (NearInfrared) Bruker Tango. Uzorci su iz zavezanih i označenih PVC vrećica izvađeni zaštitnim rukavicama. 100 grama svakog od 40 uzoraka izvaže se analitičkom vagom MettlerToledo s točnošću od 0,01 gram, samelje mlincom te stavi u uređaj. Uređaj zatim očitava rezultat na principu infracrvene spektroskopije.

Dobiveni rezultati uspoređeni su unutar skupina i među skupinama te je izračunata srednja vrijednost sadržaja vlage za svaku skupinu prema sljedećoj formuli:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_N}{N}$$



- srednja vrijednost skupine
- vrijednost člana skupine
- zbroj članova skupine

Prikaz rezultata izrađen je u Excelu 2013.

Klijavost kukuruza

Od svakog od 40 uzoraka izdvojeno je 100 zrna kukuruza zaštitnim rukavicama te stavljeno u 40 posuda s vodovodnom vodom na 24 sata, nakon čega su zrna posijana u 40 plastičnih posuda napunjenih identičnom zemljom. Svaka skupina sadržavala je tri serije ponavljanja. Da bi jedinke imale što sličnije uvjete za rast, izložene su u kabinetu biologije Gimnazije Josipa Slavenkog Čakovec istim uvjetima: istoj temperaturi, vlažnosti zraka te jednakoj količini svjetlosti. Uz pretpostavku da su nakon 30 dana bili zadovoljeni svi uvjeti za klijanje kukuruza, prebrojena su proklijala zrna u svakom uzorku. Dobiveni rezultati uspoređeni su unutar skupina i među skupinama te je izračunata srednja vrijednost broja proklijalih zrna za svaku skupinu prema prethodnoj formuli. Izračunat je postotak klijavosti za svaki uzorak prema sljedećoj formuli:

$$K = \frac{x}{N} \cdot 100$$

K – postotak klijavosti uzorka

x – broj proklijalih zrna u uzorku

N – ukupan broj zrna u uzorku (u našem uzorku N=100)

Prikaz rezultata izrađen je u Excelu 2013.

Određivanje zearelenona u kukuružu

Analiza prisutnosti mikotoksina zearelenona u odabranim uzorcima kukuruza provedena je ELISA (EnzymeLinkedImmunosorbentAssay) testom (Šegvić Klarić i sur., 2009) u Bioinstitutu. U cijelom postupku korištena je zaštitna oprema: kuta, rukavice i zaštitne naočale. Za analizu su iz skupine A, B1 i B2 izdvojena 4 uzorka, a iz skupine K 5 uzoraka što je ukupno 17 uzoraka.

Priprema uzorka

Odabrani uzorci kukuruza samljeveni su mlincem te je analitičkom vagom MettlerToledo s točnošću od 0,01 gram izvagano 5 grama svakog uzorka. Svaki uzorak stavljen je u tikvicu u koju je dodano 25 mL 70-postotne otopine metanola (CH₄O). Tikvica s uzorkom ručno je mućkana tri minute. Pripremljena je otopina profiltrirana, a dobiveni filtrat pet puta razrijeđen destiliranom vodom.

Provođenje imunoenzimskog testa

ELISA test proveden je setom Veratox for Zearelenone proizvođača Neogen prema uputama proizvođača. Set sadrži pet otopina standarda (0, 25, 75, 150, 500 µg/kg), otopinu konjugata, otopinu supstrata, stop reagens te crvene i prozirne jažice potrebne za analizu. 100µL konjugatamikropipetom je dodano u crvene jažice postavljene na stalak. U njih je tada redom dodano po 100 µL standardnih otopina i pripremljenih uzoraka. Sadržaj crvenih jažica je osamkanalnommikropipetom promućkan te je 100 µL premješteno u prozirne jažice. Crvene jažice se



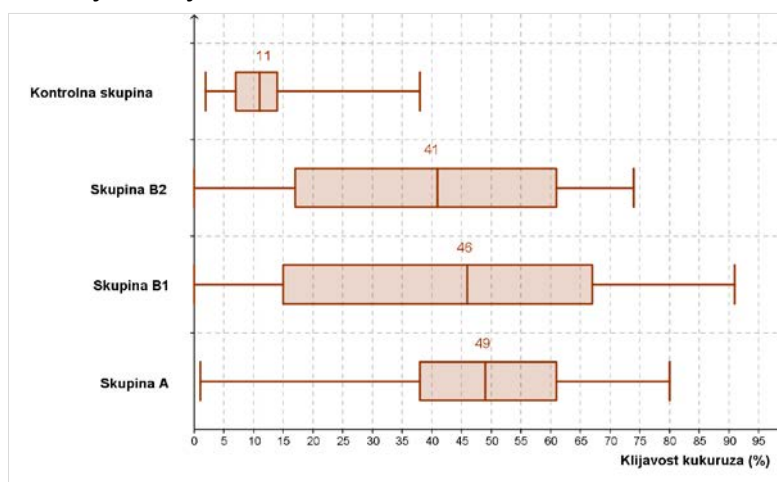
zatim bace. Nakon točno pet minuta sadržaj je izliven iz prozirnih jažica koje su tada pet puta isprane destiliranom vodom i osušene tapkanjem po papirnatom ručniku. U isprane i osušene jažice osamkanalnom mikropipetom dodano je 100 μL supstrata koji je prethodno iz bočice uliven u plastičnu lađicu. Nakon pet minuta u jažice je osamkanalnom mikropipetom dodano 100 μL stop reagensa koji je prethodno iz bočice uliven u plastičnu lađicu. Stalak s jažicama stavljen je na postolje ELISA čitača BioTek ELx800 (650 nm filter) kojim se upravlja putem računala programom GEN5. Temeljem promjene boje u uzorcima uređaj mjeri apsorbancije. Pomoću programa Veratox v.3.0.1. iz izmjerenih apsorbancija izrađuje se kalibracijska krivulja i prema njoj izražava konačni rezultat, odnosno koncentracija zearalenona u $\mu\text{g/kg}$ za pojedine uzorke. Dobiveni rezultati uspoređeni su s Preporukom komisije Europske zajednice o prisutnosti deoksinivalenola, zearalenona, okratoksina A, T-2 i HT-2 i fumonizina u proizvodima namijenjenim za prehranu životinja te s Uredbom komisije Europske zajednice o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani čovjeka.

Statističke metode analize rezultata

Za analizu i grafički prikaz podataka korišteni su programi Microsoft Excel 2010 i GeoGebra 4.2. Usporedba skupina s kontrolom skupinom te skupina međusobno provedena je t-testom i analizom varijance (one-way ANOVA). Kao statistički značajni rezultati smatraju se vrijednosti različite na razini $p < 0,05$. Utjecaj jednog čimbenika na drugi određen je Pearsonovim koeficijentom korelacije (r).

REZULTATI

Utjecaj načina skladištenja na klijavost kukuruza



Slika 1. Postotak klijavosti kukuruza po skupinama (B-P dijagram)

Postotak klijavosti kukuruza prikazan je u B-P grafu, tzv. brkatom grafu (Slika 1.). Broj predstavlja median ili vrijednost koja je u sredini uzorka, pravokutnik obuhvaća 50% podataka u uzorku, a crta je razvučena od najmanje do najveće vrijednosti u uzorku. Najveću vrijednost mediana ima skupina A, a najmanju kontrolna skupina. Najveći raspon vrijednosti pokazuje skupina B1, a najmanji kontrolna. Usporedba skupine B1 i B2 pokazuje da skupina B1 ima veću vrijednost mediana i veći raspon vrijednosti. Minimalna vrijednost, jednaka kod skupina B1 i B2, ujedno je i najmanja minimalna vrijednost svih skupina, a najveća je minimalna vrijednost kod kontrolne skupine. Najveća maksimalna vrijednost je u skupini B1, a najmanja u kontrolnoj skupini.



Statistička usporedba klijavosti između svake dvije skupine određena je t-testom za uzorke različitih varijanci ($p < 0,05$; kritična vrijednost za $t = 2,007$) (Tablica 1.). Postoji statistički značajna razlika između skupina A, B1, B2 i kontrolne skupine. Nema statistički značajne razlike u klijavosti između uzoraka skupine B1 i B2. Kod uzoraka skupine A uočena je najveća klijavost (statistički značajno u odnosu na K, ali ne i na B1 i B2). Analiza statističkim alatom ANOVA pokazuje da mjesto skladištenja statistički značajno utječe na klijavost ($F = 22,97$; $p < 0,05$; $F_{krit} = 3,156$).

Tablica 1. Prikaz t-vrijednosti dobivenih analizom klijavosti kukuruza t-testom u skupinama A, B1, B2 i K

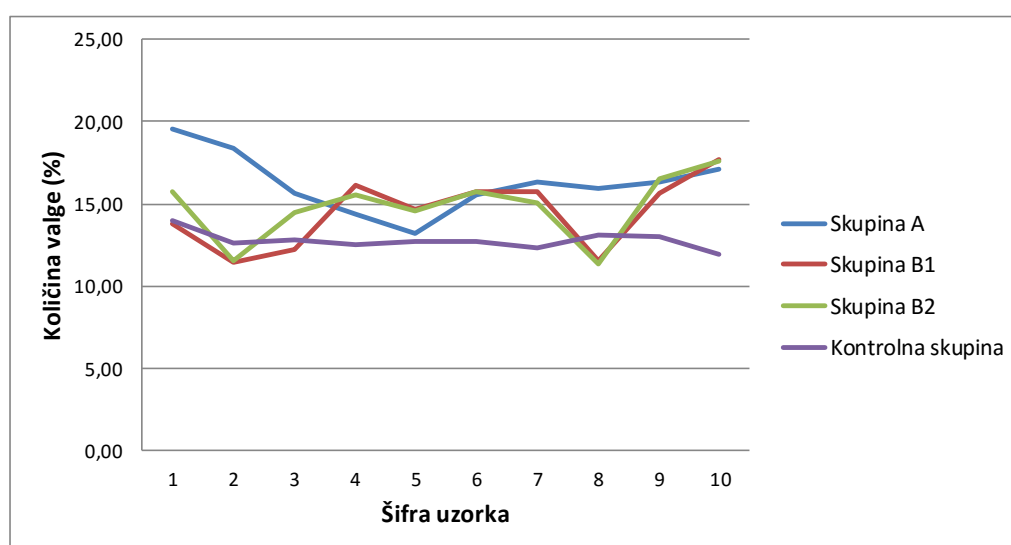
t -vrijednosti	A	B1	B2	K
A	-	0,837	1,506	8,826
B1	0,837	-	0,487	5,359
B2	1,506	0,487	-	5,331
K	8,826	5,359	5,331	-

Srednje vrijednosti klijavosti kukuruza unutar skupina pokazuju da je najveća srednja vrijednost zabilježena kod skupine A (46,70%), a najmanja u kontrolnoj skupini (12,03%), dok su vrijednosti u skupini B1 (41,37 %) i B2 (37,90 %) podjednake.

Utjecaj načina skladištenja na vlažnost kukuruza

Jednaku pravilnost utvrdili smo i kod srednje vrijednosti količine vlage u kukuruзу po skupinama pa je ona opet najveća kod skupine A (16,24%), a najmanja u kontrolnoj skupini (12,77%), a podjednaka u skupinama B1 (14,46%) i B2 (14,81%).

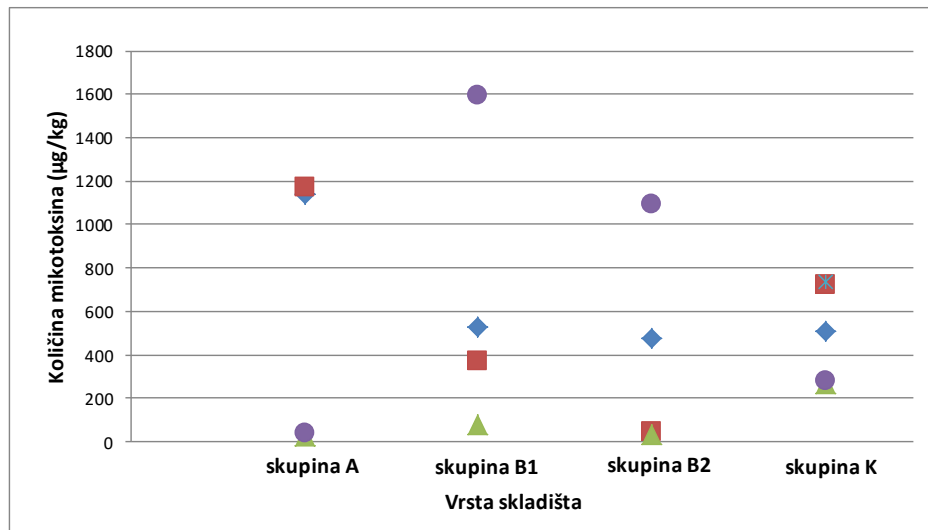
Usporedba količine vlage u pojedinim uzorcima iz svake skupine (Slika 2.) pokazuje da je količina vlage u kontrolnoj skupini bez većih varijabilnosti i pokazuje najnižu vrijednost, dok kod B1, B2 i A skupine postoji veća varijabilnost rezultata, odnosno širi raspon vrijednosti, posebice kod skupine A.



Slika 2. Količina vlage (%) u pojedinom uzorku prema skupinama (načinu skladištenja)

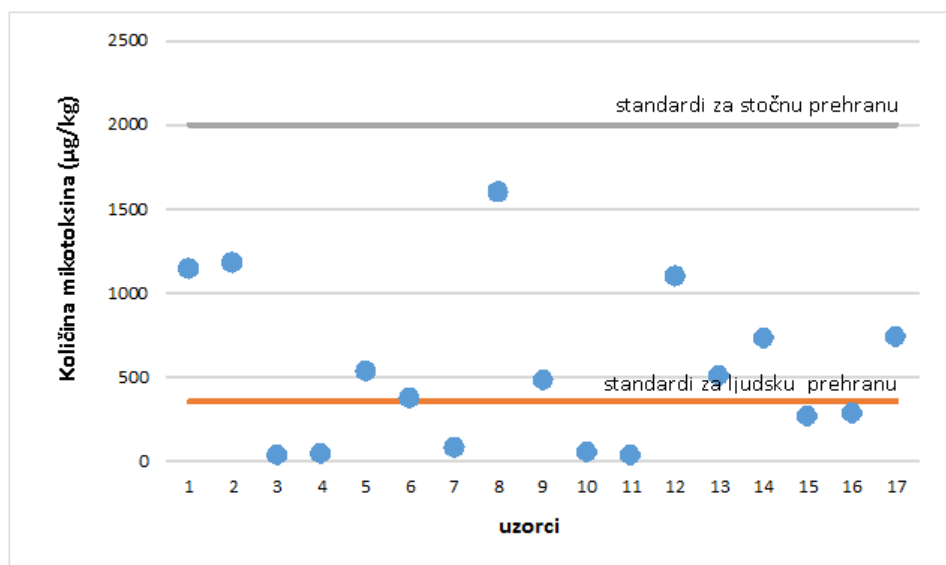
Utjecaji načina skladištenja na količinu mikotoksina zearalenona

Analizirano je ukupno 17 uzoraka i to u skupini A, B1, B2 4 uzorka i u skupini K 5 uzoraka. Najviša vrijednost količine zearalenona zabilježena je u skupini B1, no u skupini A dolazi do podudaranja dvaju uzoraka s visokom količinom mikotoksina. U skupini B2 i K nije prisutna tolika količina zearalenona (Slika 3.).



Slika 3. Količina zearalenona prema vrsti skladišta u sva četiri ispitivana uzorka

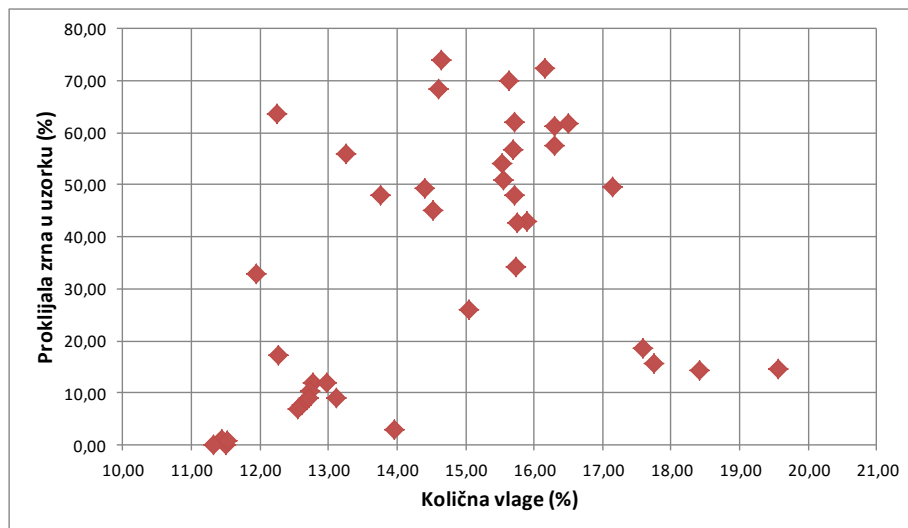
Usporedba količine zearalenona u odabranim uzorcima kukuruza sa standardima EZ. Prema Preporuci komisije Europske zajednice o prisutnosti deoksinivalenola, zearalenona, okratoksina A, T-2 i HT-2 i fumonizina u proizvodima namijenjenim za prehranu životinja ispravni su svi ispitivani uzorci, dok prema Uredbi komisije Europske zajednice o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani čovjeka ispravno je 7 od 17 ispitivanih uzoraka (Slika 4.). Od toga su dva uzorka iz skupine A (28% ispitanih uzoraka), jedan iz skupine B1 (14% ispitanih uzoraka), dva iz skupine B2 (28% ispitanih uzoraka) i dva iz skupine K (28% ispitanih uzoraka).



Slika 4. Usporedba količine zearalenona u uzorcima sa standardima EZ

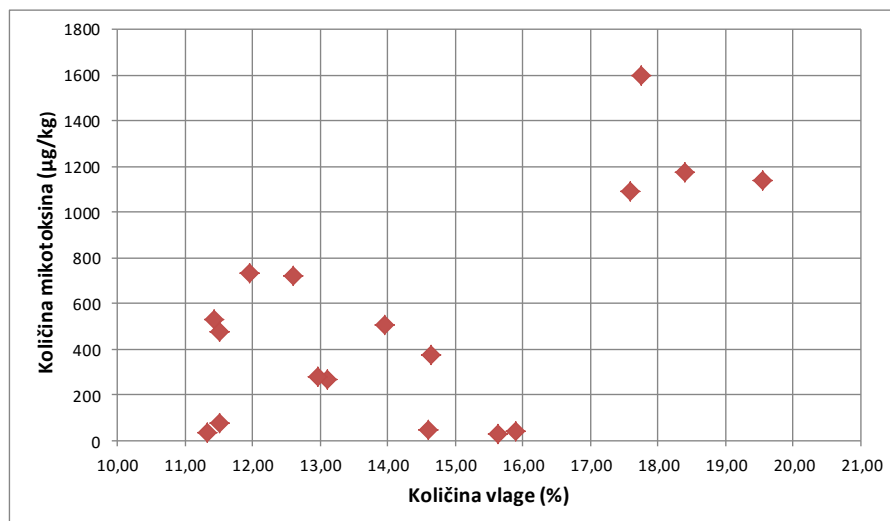
Korelacija klijavosti, vlažnosti, prisutnosti plijesni i količine mikotoksina

Analiza rezultata prema Pearsonovu koeficijentu pokazuje pozitivnu, relativno slabu korelaciju između količine vlage i postotka klijavosti u uzorku ($r = 0,404$), što znači da veća vlažnost osigurava veću klijavost (Slika 5.).



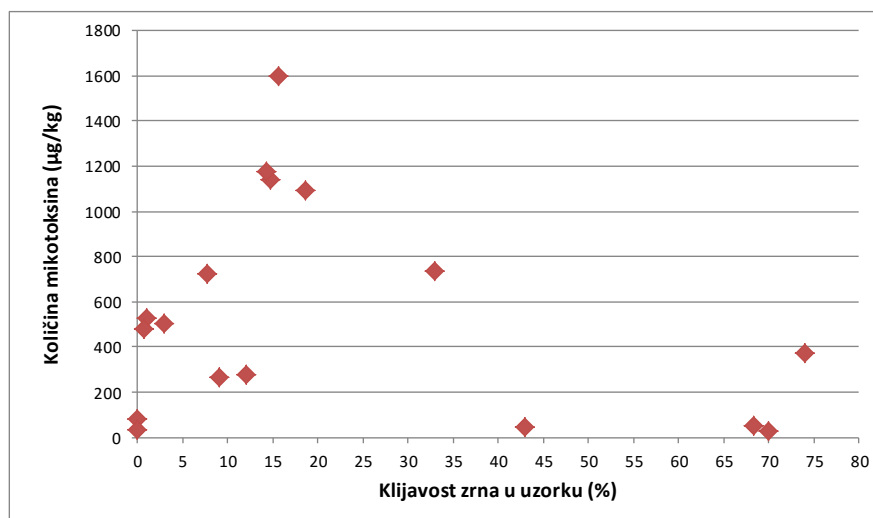
Slika 5. Ovisnost količine vlage i klijavosti

U uzorcima s manjom količinom vlage količina mikotoksina manja je nego u uzorcima s većom količinom vlage. Pearsonov koeficijent ($r = 0,605$) upućuje na postojanje srednje jake pozitivne korelacije (Slika 6.).



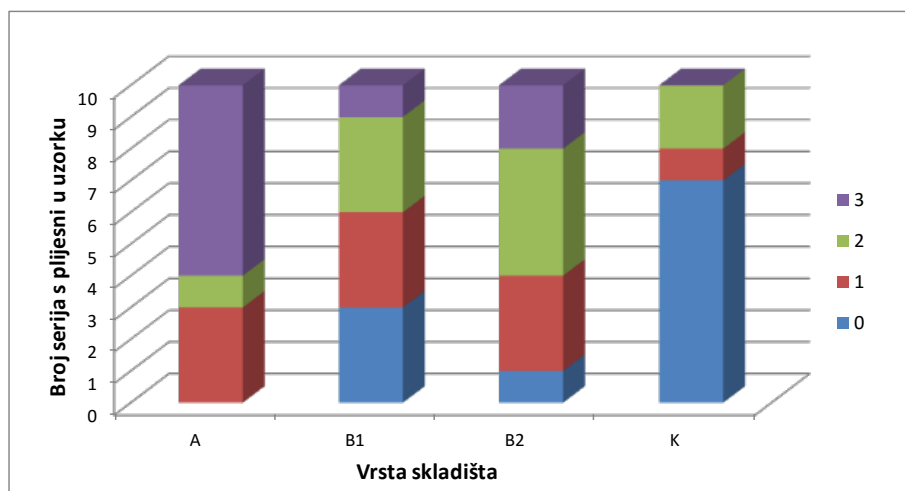
Slika 6. Količina mikotoksina s obzirom na količinu vlage

U uzorcima s niskim postotkom klijavosti zabilježena je veća količina mikotoksina, dok je u uzorcima s visokim postotkom klijavosti zabilježena manja količina mikotoksina što potvrđuje i Pearsonov koeficijent korelacije ($r = -0,28$) koji pokazuje relativno slabu negativnu korelaciju (Slika 7.).



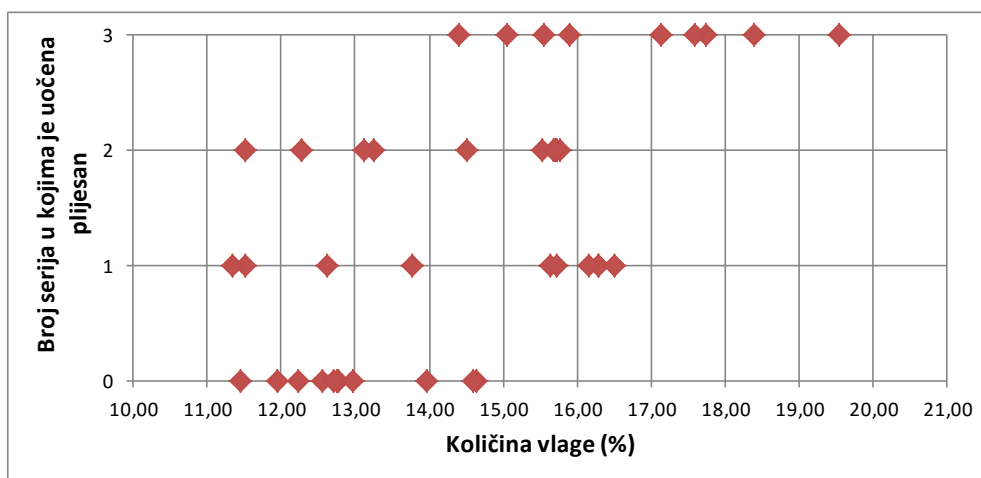
Slika 7. Odnos količine mikotoksina i klijavosti zrna u uzorku

Analizirajući broj serija s plijesni u uzorku i vrstu skladišta (Slika 8.) dobiveni su rezultati koji pokazuju barem jednu zabilježenu seriju plijesni kod svih uzoraka iz kukuružnjaka. Tu je i najviše uzoraka s plijesnim u svim trima serijama. U kontrolnoj skupini najmanje je uzoraka u kojima je zamijećena plijesan.



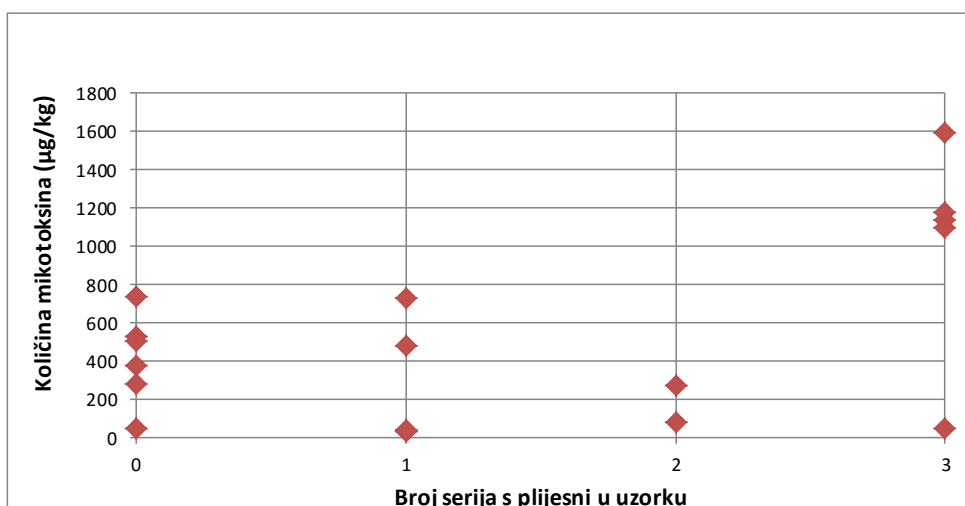
Slika 8. Broj serija s plijesni u uzorku s obzirom na vrstu skladišta

Usporedbom broja serija u kojima je uočena plijesan s količinom vlage, vidljivo je da se plijesan pojavila u dvije ili manje serija u uzorcima s manje vlage, a da se u uzorcima s više od 14% vlage pojavila u trima serijama. U uzorcima s količinom vlage većom od 17% plijesan se pojavila uvijek u svim trima serijama (Slika 9.).



Slika 9. Odnos broja serija u kojima je uočena plijesan i količine vlage

Personov koeficijent pokazuje da između količine mikotoksina zearalenona i broja serija s plijesnima (Slika 10.) postoji relativno slaba pozitivna korelacija ($r = 0,488$). Najviše vrijednosti mikotoksina zearalenona nalaze se u uzorcima s ponavljanjem plijesni u svim trima serijama.



Slika 10. Međuovisnost količine mikotoksina i broja serija s plijesnima u uzorku

RASPRAVA

Analizom dobivenih rezultata mogu se uočiti razlike u klijavosti, vlažnosti i količini mikotoksina zearalenona u uzorcima kukuruza (*Zeamays* L.) iz različitih tipova skladišta.

Utjecaj načina skladištenja na klijavost kukuruza

Istraživanje je pokazalo da način skladištenja kukuruza (*Zeamays* L.) utječe na njegovu klijavost. Uzorci iz silosa pokazuju najmanji postotak klijavosti što se moglo i očekivati s obzirom na to da uzorci skladišteni u velikim silosima prethodno prolaze tretman sušenja na visokim temperaturama, a to prema Duraković i Duraković (2003) smanjuje sadržaj vode u zrnu na razinu nižu od 19% što izaziva raspucavanje zrna. Iako smo pretpostavili da postoje razlike u klijavosti uzoraka s dna i vrha hrpe kukuruza skladištenog u nemehaniziranim podnim skladištima, uzorci skupina B1 i B2 ne pokazuju velike razlike u klijavosti, a moguć je razlog uništenje zrna na vrhu hrpe od strane nametnika (Rozman



i Liška, 2012). Uzorci iz kukuružnjaka pokazuju najbolju klijavost zbog velike količine vlage u njima čime je omogućena fiziološka aktivnost zrnja (Rozman i Liška, 2012), ali i razvoj plijesni.

Utjecaj načina skladištenja na vlažnost kukuruza

Iako je očekivanje bilo da će najveća vlažnost biti u nemehaniziranim podnim skladištima, rezultati pokazuju najveću količinu vlage u uzorcima koji su skladišteni u kukuružnjacima. Uzrok ovih rezultata mogla bi biti neuobičajeno velika količina padalina kojoj je kukuruz bio izložen tijekom skladištenja u kukuružnjacima. Posljedica tako velike vlažnosti je i često kvarenje skladištenog proizvoda (Rozman i Liška, 2012). Kontrolna skupina bilježi najmanju količinu vlage zbog kontroliranih uvjeta u silosima te sušenja i dosušivanja u sušarama (Rozman i Liška, 2012). Razlike u količini vlage između skupina B1 i B2 nisu značajne, a to objašnjava skladištenje proizvoda u kutijama i vrećama koje štite kukuruz od direktnog doticaja s betonskim podom te je riječ o manjim hrpama skladištenog kukuruza (*Zea mays* L.).

Utjecaji načina skladištenja na količinu mikotoksina zearalenona

Zbog skupoće seta za provođenje ELISA testa prisutnost i količina zearalenona određena je u 17 odabranih uzoraka pri čemu su iz svake skupine odabrani uzorci koji su u ovom istraživanju pokazali najveći postotak klijavosti te nekoliko uzoraka s najmanjim postotkom klijavosti.

Iako je pretpostavljeno da uzorci iz silosa neće biti kontaminirani zearalenonom, od pet ispitanih uzoraka u svima je utvrđena prisutnost zearalenona, no zabilježene vrijednosti niže su nego u uzorcima iz ostalih tipova skladišta. U uzorcima iz silosa K8 i K9 izmjerene su najniže količine mikotoksina, što ide u prilog činjenici da je u tim silosima skladišten kukuruz koji je prije siliranja prosijan, a u samom silosu izložen sustavu hlađenja, dok su u uzorcima neprosijanog i nehlađenog kukuruza iz silosa K1, K2 i K10 utvrđene veće količine zearalenona (Prilog 1.). U uzorcima iz kukuružnjaka utvrđene su najveće količine zearalenona, dok uzorci iz skupina B1 i B2 ne pokazuju velike razlike u količini zearalenona. Kad bi količina zearalenona bila određena u svim uzorcima, mogli bi se donositi zaključci s većom sigurnošću, ovako je samo ukazano na moguće trendove.

Korelacija klijavosti, vlažnosti, prisutnosti plijesni i količine mikotoksina

Istraživanje je, također, pokazalo korelacije između klijavosti uzorka, vlažnosti uzorka te prisutnosti i količine zearalenona bez obzira na tip skladišta. S obzirom na to da su tijekom proučavanja klijanja uzoraka u posudicama uočene plijesni, utvrđena je i korelacija prethodno navedenih čimbenika s prisutnošću i učestalošću ponavljanja plijesni u uzorcima. Prema literaturi većina plijesni opasnih za zdravlje ljudi podrijetlom je iz skladišta, no ipak postoje i biološki aktivni produkti metabolizma plijesni s prirodnih staništa koji pokazuju toksični učinak na zdravlje ljudi i životinja (Šarkanj i sur., 2010). Zrnje je vrlo slabo klijalo u uzorcima s količinom vlage manjom od 14% jer je za početak fiziološke aktivnosti zrnja potrebna količina vlage veća od 14% (Rozman i Liška, 2012). Najveći postotak zrnja proklijao je u uzorcima s 14% do 17% vlage. U uzorcima s više od 17% vlage postotak klijavosti pada, ali dolazi do povećanja količine plijesni, proizvođača mikotoksina. Rast plijesni na žitaricama ostavlja niz značajnih posljedica koje započinju smanjenjem sposobnosti klijanja sjemena (Duraković i sur., 2002) što je bilo vidljivo i u našim uzorcima. Gledajući utjecaj vlage na količinu zearalenona, zamjećuju se manje vrijednosti zearalenona pri uzorcima s manje od 17% vlage. Iako je broj uzoraka s više od 17% vlage manji, svi pokazuju veće količine zearalenona. Pretpostavljeno je da



će postotak klijavosti i količina zearalenona u uzorku negativno korelirati, no dokazana je slaba negativna korelacija. Svi ispitivani uzorci pozitivni su na prisutnost zearalenona bez obzira na skladište iz kojeg potječu, no prema Preporuci komisije Europske zajednice o prisutnosti deoksinivalenola, zearalenona, okratoksina A, T-2 i HT-2 i fumonizina u proizvodima namijenjenim za prehranu životinja, te vrijednosti ne prelaze dopuštene količine (EuropeanCommission, 2006.a). Međutim, prema Uredbi komisije Europske zajednice o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani čovjeka ispravno je 7 od 17 ispitivanih uzoraka (European Commission, 2006.b). Pokazalo se da u svim ispitivanim skupinama postoje neadekvatni uzorci za prehranu ljudi (50% ispitanih uzoraka u skupini A i B2, 60% u skupini K i 75% B1). Ispitivani kukuruz iz silosa prvenstveno se koristi za dobivanje stočne hrane, a postavlja se pitanje nije li dio kukuruza iz domaćinstava namijenjen i ljudskoj prehrani što bi u tom slučaju moglo predstavljati problem. Razlozi prisutnosti mikotoksina nisu samo vidljive plijesni, već u literaturi nalazimo podatke da mikotoksini mogu biti proizvedeni u biljkama zaraženim u polju, tijekom žetve, tijekom skladištenja i prijevoza, tijekom tehnološke transformacije i pri pripremi hrane (Bilandžić i sur., 2013). U svim uzorcima iz tradicionalnih kukuružnjaka zabilježena je barem jedna serija s plijesni, a u istoj skupini je i najviše uzoraka s plijesni u svim trima serijama. Do razvitka plijesni došlo je zbog velike količine vlage s kojom je kukuruz (*Zeamays* L.) ubran, a koja potpomaže porast plijesni (Duraković i Duraković, 2003). Manji broj serija u kojima je zabilježena plijesan javlja se u uzorcima skladištenim u skladištima zatvorenog tipa, čime je njihova kontaminacija plijesnima tijekom skladištenja mnogostruko smanjena (Duraković i Duraković, 2003). Toksikotvorne plijesni mogu rasti i proizvoditi mikotoksine na raznim žitaricama: u polju, prije žetve, nakon žetve, tijekom procesiranja, transporta i uskladištenja (Šarkanj i sur., 2010). Uzorci u kojima se pojavljuje plijesan u svim trima serijama imaju najveće vrijednosti zearalenona. Primjećeno je da postoje uzorci u kojima se plijesan nije pojavila ni u jednoj seriji, a istovremeno je u njima dokazana prisutnost zearalenona, no u tim je uzorcima količina zearalenona višestruko manja nego u uzorcima u kojima se plijesan pojavljivala u jednoj, dvije ili u svim trima serijama. Iako identifikacija kontaminacije plijesnima može biti dijagnostička vrijednost u ispoljavanju mikotoksikoza, stvarni zaključci mogu biti doneseni samo stvarnom identifikacijom specifičnog mikotoksina jer: 1) utvrđivanje prisutnosti plijesni još uvijek ne dokazuje i tvorbu mikotoksina, 2) određeni se toksin može nalaziti u namirnici ili krmi, a plijesni u tim supstratima već odavno nema, 3) plijesan odgovorna za sintezu može proizvoditi i više od jednog toksina i 4) određene toksine mogu sintetizirati različiti rodovi plijesni (Duraković i Duraković, 2003).

ZAKLJUČCI

Rezultati istraživanja pokazali su sljedeće:

- ✓ u uzorcima skladištenim u tradicionalnim kukuružnjacima najveća je klijavost kukuruza, vlažnost kukuruza te količina plijesni i mikotoksina zearalenona
- ✓ ne postoji razlika u vlažnosti, klijavosti i količini mikotoksina zearalenona u uzorcima s dna i vrha nemehaniziranih podnih skladišta
- ✓ u uzorcima iz silosa najmanja je klijavost i vlažnost kukuruza, zastupljenost plijesni te količina mikotoksina zearalenona, a razlog tome je sušenje i prosijavanje kukuruza prije siliranja, ali i kontrolirani uvjeti u silosima
- ✓ postoji korelacija plijesni s ispitivanim parametrima (klijavošću, sadržajem vlage i količinom mikotoksina zearalenona)



- ✓ svi su uzorci ispitivani na prisutnost zearalenona pozitivni, ali prema Preporuci komisije Europske zajednice o prisutnosti zearalenona u proizvodima namijenjenim za prehranu životinja, svi ispitivani uzorci ispravni su, dok je prema Uredbi komisije Europske zajednice o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani čovjeka ispravno 7 od 17 ispitivanih uzoraka.

Dobiveni rezultati upućuju na međusobnu ovisnost načina skladištenja, klijavosti, vlažnosti, količine mikotoksina zearalenona te prisutnosti i učestalosti pojavljivanja plijesni u uzorcima kukuruza. Suprotno očekivanjima i uvriježenome mišljenju, tradicionalni način skladištenja pokazuje moguće kontaminacije plijesnima i mikotoksinima, osobito u vlažnijim godinama. Ukoliko se takav kukuruz, kontaminiran plijesnima i mikotoksinima koristi u ljudskoj prehrani, može predstavljati ozbiljne rizike za zdravlje pa je i takozvanu „domaću zdravu hranu“ nužno kontrolirati.

LITERATURA

- Anonymus, 2012. Fitohormoni – giberelini. Gnojdba.info. On-line URL: <http://www.gnojdba.info/biostimulatori/fitohormoni-giberelini/> Pristupljeno: 26.2.2015.
- Anonymus, 2009. Klijanjesjemeni. Šumarskifakultet u Zagrebu. On-line URL: http://www.sumfak.unizg.hr/download.aspx?file=/Upload/sec_001/ins_003/Fiziologija%20bilja/2c%20-%20Klijanje%20sjemeni.pdf Pristupljeno: 26.2.2015.
- Bilandžić N., Varenina I., Božić Đ., Sedak M., Đokić M., Solomun Kolanović B., Cvetnić Ž. 2013. Aflatoksin M1 u mlijeku i mliječnim proizvodima, Veterinarska stanica 44 (3): 195 - 203
- Domac R. 1994. Flora Hrvatske: priručnik za određivanje bilja. Školska knjiga, Zagreb, 458
- Dubravac K.-D., Regula I. 1995. Fiziologija bilja. Školska knjiga – Zagreb, Zagreb
- Duraković S., Duraković L. 2003. Mikologija u biotehnologiji. Kugler, Zagreb, str. 81-208.
- Duraković S. i sur.. 2002. Moderni mikrobiologija namirnica – knjiga prva. Kugler, Zagreb, str. 202-203.
- European Commission, 2006. a COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs/ UREDBA KOMISIJE (EZ) br. 1881/2006, od 19. prosinca 2006. utvrđivanje najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani. Official Journal of the European Union Vol 49: L 364/5- L 364/23 On-line URL: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=en> Pristupljeno 15.3. 2015.
- European Commission, 2006. b COMMISSION RECOMMENDATION of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding./Preporuka komisije Europske zajednice o prisutnosti deoksinivalenola, zearalenona, okratoksina A, T-2 i HT-2 ifumonizina u proizvodima namijenjenim za prehranu životinja. Official Journal of the EU Vol 49: L 229/7-L 229/9 On-line: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:229:0007:0009:EN:PDF> Pristupljeno 15.3.2015.
- Majdak T., Petrov V., Hrgović S. 2001. Kukuruz. FileDaTa, Zagreb
- Mašek T., Šerman V. 2006. The influence of mycotoxins on ruminant health and performance. Krmiva 48: 19-20
- Pevalek-Kozlina B. 2003. Fiziologija bilja. Profil, Zagreb, str. 351-352.
- Rozman V., Liška A. 2012. Skladištenje ratarskih proizvoda: priručnik za vježbe. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. On-line URL: <http://www.pfos.unios.hr/~dsego/ftp/Skladistenje%20ratarskih%20proizvoda%20prirucnik%20za%20vjezbe.pdf> Pristupljeno 15.1.2015.
- Šarkanj B., Kipčić D., Vasić-Rački Đ., Delaš F., Galić K., Katalenić M., Dimitrov N., Klapac T. 2010. Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani. Grafika d.o.o., Osijek
- Šegvić Klarić M., Cvetnić Z., Pepeljnjak S., Kosalec I. 2009. Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A, fumonisins, and zearalenone in cereals and feed, determined by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay and thin-layer chromatography. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju 60: 427-434
- Ugarčić-Hardiž, Kočeva Komlenić D., Kuleš A., Jukić M., 2004. Poznavanje sirovina u prehrambenoj industriji – biljnidio: žitarice, leguminoze i uljarice, Upute za laboratorijske vježbe na PBF-u u Osijeku, Osijek
- Zadravec M., Duvnjak M., Pleadin J., Kljak K., Jaki Tkalec V., Majnarić M., Mitak M. 2013. Kakvoća kukuruzne silaže s obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava Koprivničko-križevačke županije tijekom 2012. godine, Veterinarska stanica 44 (3): 187 - 193
- Zovkić I. 1985. Proizvodnja kukuruza. NIRO-Zadrugar, Sarajevo

UČINAK MIKROVALNOG ZRAČENJA NA PREŽIVLJAVANJE PROBIOTIKA U MLIJEČNIM PROIZVODIMA

Edvard Bedoić, 2. razred

III. gimnazija, Zagreb

Mentor: Ljubica Kostanić

SAŽETAK

U radu je proučavan učinak mikrovalne pećnice na preživljavanje probiotika i ostalih mikroorganizama u mliječnim proizvodima.

Uzorci mliječnih proizvoda bili su zagrijani najprije u mikrovalnoj pećnici, a zatim do iste temperature u vodenoj kupelji. Nakon više serija zagrijavanja, nasađeni su uzorci uzgajani na hranjivoj podlozi na sobnoj temperaturi (23°C).

Rezultati su pokazali da mikroorganizmi u mliječnim proizvodima preživljavaju sve do 70°C. Zagrijavanje pomoću mikrovalne pećnice uništava manje mikroorganizama u kupovnom, industrijski obrađenom mlijeku i acidofilu nego zagrijavanje pomoću vodene kupelji, dok su mikroorganizmi iz domaćeg mlijeka bili osjetljiviji na mikrovalove od klasičnog zagrijavanja. Iz navedenih rezultata može se zaključiti da se mikrovalno zračenje može koristiti za sterilizaciju mlijeka i mliječnih proizvoda. Vrlo je važno da svi mliječni proizvodi prije plasiranja na tržište prođu sve potrebne procese termičke obrade (pasterizacija, sterilizacija i rad u strogo kontroliranim uvjetima). Razlog tome je da se smanji mogućnost kvarenja proizvoda, ali i da se suzbije mogućnost rasta loših mikroorganizama koji bi mogli ugroziti zdravlje čovjeka, no navedeno istraživanje također ukazuje i na to da su probiotici osjetljivi na povišene temperature i sugerira se kako se mliječni proizvodi koji sadrže probiotike ne bi trebali zagrijavati.

Ključne riječi: *mikroorganizmi, mikrovalovi, probiotici, mikrovalna pećnica, vodena kupelj, domaće svježe mlijeko, kupovno svježe mlijeko, acidofil, zagrijavanje, hranjiva LB podloga, kontrolna skupina, pasterizacija, sterilizacija*

UVOD

MIKROBIOLOGIJA

Živi svijet danas ne možemo zamisliti bez sićušnih, golim okom nevidljivih, organizama. Takve organizme nazivamo mikroorganizmima, a grana biologije koja se bavi njihovim proučavanjem naziva se mikrobiologija (Pavletić, 1978).

Mikroorganizmi se nalaze svuda oko nas: u tlu, vodi, hrani i piću koje svakodnevno konzumiramo te tvarima koje nas okružuju. Uvjeti pogodni za njihov rast i život su oni u kojima žive ljudi, ali i uvjeti ekstremne temperature, tlaka, slanosti i drugi, nama stresni. Prema djelovanju dijele se u tri skupine: korisne, štetne i indiferentne, a neki žive u endosimbiozi s čovjekom, kao na primjer *Escherichia coli* (Alegro, Krajačić, Lucić, 2014). *Escherichia coli* najpoznatija je vrsta u sastavu fiziološke crijevne mikroflore ili mikrobioma. Ova bakterija nalazi se u debelom crijevu čovjeka gdje djelomično razgrađuje celulozu i sintetizira vitamine K i B12. Ako promijeni stanište i dospije u bilo koji drugi dio organizma, ona postaje patogena (Dolenec, Rusak, 2010).

Mikroorganizmi su i razlagači, proizvođači organskih tvari, bez njih je nemoguće kruženje elemenata u prirodi, a neki su našli svoje mjesto i u industriji (farmaceutskoj, prehrambenoj). Štetni mikroorganizmi nazivaju se „patogeni“ (grč. *páthos* - bolest, *génesis* - postanak) jer su uzročnici bolesti (Krsnik-Rasol, Krajačić, Lukša, 2014).



CARSTVO MONERA

Carstvo Monera sastoji se od tri podcarstva: arheobakterije, eubakterije ili prave bakterije i cijanobakterije. Bakterije su najbrojniji organizmi na Zemlji. One naseljavaju cijelu biosferu, od 11 km ispod Zemljine površine, do 70 km u visinu atmosfere (Ilić, Zdražil, 1997).

„DOBRE BAKTERIJE“

Nisu sve bakterije uzročnici bolesti. Probiotici su dobre bakterije koje u određenoj količini imaju povoljne učinke na zdravlje domaćara. Oni pomažu uspostavljanju ravnoteže (između „dobrih“ i „loših“ bakterija) u našim crijevima. Razlog tome je što mikroflora može postati poremećena zbog različitih bolesti, procesa starenja, stresa te uzimanja antibiotika. Oni nisu u mogućnosti zamijeniti uništenu mikrofloru, ali mogu pomoći organizmu obavljajući iste funkcije koje obavlja prirodna mikroflora. Najčešće korišteni probiotici jesu vrste roda *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, no nalazimo i vrste rodova *Lactococcus*, *Saccharomyces* i *Enterococcus* (Alegro, Krajačić, Lucić, 2014).

Bakterije mliječne kiseline koriste se već dugo u prehrambenoj industriji (u pripremi jogurta, kefira, acidofila, sira) zbog sposobnosti pretvaranja šećera i drugih ugljikohidrata u mliječnu kiselinu. Osim procesa fermentacije, omogućuju i prezervaciju hrane tako što snižavaju pH- vrijednost i onemogućuju rast patogenih bakterija (Duraković, 1991).

MLIJEKO

„Mlijeko je u svijetu priznato kao temeljni prehrambeni proizvod koji osim energetski vrijednih tvari organizmu daje još i određene količine zaštitnih tvari, kao vitamine i minerale. Velika većina ljudi dobro podnosi mlijeko, stoga je utrošak mlijeka u čitavom svijetu danas prilično visok. U nekim se zemljama godišnje potroši po osobi 500 pa i 600 litara mlijeka. Kod nas je potrošnja i mlijeka i mliječnih proizvoda prilično niska, čak upućuje na trend pada“ (Živković, Maver, 1994).

Ipak, posljednjih godina dolazi do veće konzumacije mliječnih proizvoda, posebice fermentiranih. To se većinom odnosi na jogurt i acidofilno mlijeko.

Mlijeko je vrlo „fleksibilan“ proizvod jer ga možemo ponuditi u vrlo širokim omjerima smanjene količine mliječne masti, ostavljajući pritom raspoređenost vitamina i minerala gotovo nepromijenjenu (Gurr, M.I., 1992). Mlijeko i mliječni proizvodi često se prije konzumacije zagrijavaju, a današnji brzi način života često podrazumijeva zagrijavanje u mikrovalnim pećnicama.

UTJECAJ TEMPERATURE NA MIKROORGANIZME IZ MLIJEČNIH PROIZVODA

Mikroorganizmi iz mliječnih proizvoda su u pravilu osjetljivi na povišene temperature, ali se neke vrste vrlo dobro dijele na sniženim temperaturama, čak i na 4 °C. Stoga se zagrijavanjem u mlijeku uništavaju mikroorganizmi. Pasterizacija, a to je zagrijavanje na temperaturi od 63 °C kroz 30 minuta, ili na 72 °C kroz par sekundi, ubija većinu mikroorganizama u mlijeku. Ovaj se postupak primjenjuje u industrijskoj proizvodnji mlijeka, ali i u proizvodnji mliječnih proizvoda, kao što su kiselo mlijeko, jogurt, kefir i drugo. U proizvodnji mliječnih proizvoda u pasterizirano mlijeko naciepljuju se starter kulture određene vrste bakterija, koje potom provodeći mliječno - kiselo vrenje od mlijeka proizvode fermentirane proizvode (Nester i sur., 2001).



MIKROVALNO ZRAČENJE

Mikrovalno zračenje je elektromagnetsko zračenje valne dužine od 1 mm do 1 m. Mikrovalovi ne uzrokuju promjene u strukturi tvari, već uzrokuju titranje molekula. Zbog toga mikrovalovi uzrokuju porast temperature, a taj je efekt iskorišten u mikrovalnim pećnicama za zagrijavanje i kuhanje. Molekule vode, masti i ugljikohidrata iz hrane apsorbiraju energiju mikrovalova i njihovo titranje dovodi do zagrijavanja. Također, pokazano je da se mikrovalna pećnica vrlo efikasno može koristiti za sterilizaciju (Park i sur., 2006).

OBRAZLOŽENJE TEME

Danas se u domaćinstvu vrlo često koristi mikrovalna pećnica u zagrijavanju hrane i napitaka. Hrana i napici koje konzumiramo može sadržavati veliki broj mikroorganizama. Neki od njih mogu biti uzročnici kvarenja, no ima i onih vrlo korisnih za naše zdravlje, kao što su probiotici u mliječnim proizvodima.

U ovaj istraživački rad krenulo se s namjerom da se ispitaju povišene temperature i djelovanje mikrovalnog zračenja na mikroorganizme u različitim mliječnim proizvodima. Prema dosadašnjim istraživanjima pokazalo se da se mikrovalna pećnica može koristiti za sterilizaciju, odnosno da mikrovalovi ubijaju sve žive organizme pa je pretpostavka da će veći broj mikroorganizama u mliječnim proizvodima preživjeti zagrijavanje u vodenoj kupelji nego u mikrovalnoj pećnici.

Pored toga, ovim istraživanjem ispitat će se kako djeluju mikrovalovi iz mikrovalne pećnice na probiotike iz mliječnih proizvoda koji su korisni za ljudski organizam.

Rezultati ovog istraživačkog rada ukazat će na pogodnosti i nedostatke primjene mikrovalnih pećnica u svakodnevnom životu te pokazati može li se primjerice, obradom pomoću mikrovalova osigurati kvalitetna i sigurna hrana.

U radu je korišteno kupovno mlijeko uz ono domaće. Kupovno mlijeko je za razliku od domaćega prošlo niz procesa obrade u strogo kontroliranim uvjetima, a u svrhu uklanjanja mikroorganizama koji uzrokuju kvarenje. Usporedbom podataka za kupovno i domaće mlijeko utvrdit će se je li uistinu kupovno mlijeko bogatije korisnim mikroorganizmima.

MATERIJAL I METODE RADA

METODE

PRIPREMA UZORAKA

Domaće svježe mlijeko razrijeđivalo se sterilnom vodom u laboratorijskoj čaši od 2 L u volumnom omjeru 1:2.

Kupovno svježe mlijeko se nije razrijeđivalo.

Acidofil se razrijeđivao sterilnom vodom u laboratorijskoj čaši od 2 L u volumnom omjeru 1:2.

ZAGRIJAVANJE

Uzorci predviđeni za razmazivanje na hranjivu podlogu izlože se zagrijavanju pomoću dvaju uređaja: mikrovalne pećnice i vodene kupelji.



Iz homogenizirane smjese domaćeg svježeg mlijeka i sterilne destilirane vode odlije se 100 mL pomoću menzure i prebaci u čašu od 100 mL.

ZAGRIJAVANJE U MIKROVALNOJ PEĆNICI

Po 100 mL svakog uzorka (kupovno svježe mlijeko, razrijeđeno domaće svježe mlijeko i acidofil) zagrijavalo se u mikrovalnoj pećnici kroz 30, 40, 50 i 60 sekundi. Odmah po isteku tog vremenskog intervala uzorak se promiješao i izmjerila mu se temperatura živinim termometrom. Potom se 100 μ L zagrijanog uzorka prebacilo na hranjivu LB podlogu u Petrijevoj zdjelici i ravnomjerno razmazalo po podlozi. Od svakog zagrijanog uzorka pripremljene su 3 replike.

ZAGRIJAVANJE U VODENOJ KUPELJI

Po 100 mL svakog uzorka (kupovno svježe mlijeko, razrijeđeno svježe domaće mlijeko i acidofil) se zagrijavalo u vodenoj kupelji do temperature koja je postignuta zagrijavanjem uzorka u mikrovalnoj pećnici u određenom vremenskom intervalu. Svaki uzorak analogan uzorku u mikrovalnoj pećnici zagrijavao se, uz neprekidno miješanje staklenim štapićem, u vodenoj kupelji do iste konačne temperature. Potom se 100 μ L zagrijanog uzorka prebacilo na hranjivu LB podlogu u Petrijevoj zdjelici i ravnomjerno razmazalo po podlozi. Od svakog uzorka pripremljene su 3 replike.

KONTROLNI UZORAK

Kao kontrola korišteni su uzorci koji nisu tretirani. Po 100 μ L svakog uzorka (kupovno mlijeko, razrijeđeno domaće mlijeko i acidofil) prebacilo se na hranjivu LB podlogu u Petrijevoj zdjelici i ravnomjerno razmazalo po podlozi. Od svakog uzorka pripremljene su 3 replike.

UVJETI RASTA MIKROORGANIZAMA NA HRANJIVOJ PODLOZI

Razmazi kontrolnih uzoraka i odabranih mliječnih proizvoda inkubirani su na sobnoj temperaturi 48 sati. Nakon toga su Petrijeve zdjelice fotografirane.

BROJANJE KOLONIJA MIKROORGANIZAMA

Za brojanje kolonija mikroorganizama korištene su snimljene fotografije i računalni program ImageJ. Rukovanje računalnim programom temelji se na označavanju prepoznatih kolonija te se po potrebi može mijenjati kontrast ili dodati poseban efekt radi boljeg uočavanja sitnijih kolonija (PRILOG 4.). Kod nekih uzoraka došlo je do spajanja kolonija pri čemu je bilo otežano brojanje. U takvim se slučajevima Petrijeva zdjelica podijeli na kvartale pa se izbroje kolonije u jednom kvartalu, najpogodnijem za brojanje. Množenjem s brojem kvartala dobije se srednji ukupni broj kolonija po 100 μ L uzorka.

Budući da se acidofil razrjeđivao u omjeru 1:2 sa sterilnom vodom, broj izbrojanih kolonija mikroorganizama pomnoži se s 3, kako bi se dobio broj kolonija koje se nalaze u 100 μ L acidofila.

Domaće mlijeko se razrjeđivalo sterilnom vodom u omjeru 1: 2. Kao i kod acidofila, dobivena vrijednost morala se množiti s 3, da se dobije točan broj kolonija mikroorganizama u 100 μ L domaćeg mlijeka.



REZULTATI

Razlog razrjeđivanja domaćega mlijeka jest što domaće mlijeko nije prošlo niz detaljnih analiza i postupaka, što znači da se u njemu nalazi mnogo mikroorganizama. Kada bi se nastanio uzorak čistoga nerazrijeđenoga mlijeka na hranjivu podlogu, ne bi mogli analizirati dobivene rezultate jer bi se kolonije mikroorganizama razlile jedna po drugoj. Stoga se priprema otopina domaćega mlijeka i sterilne vode u navedenom omjeru.

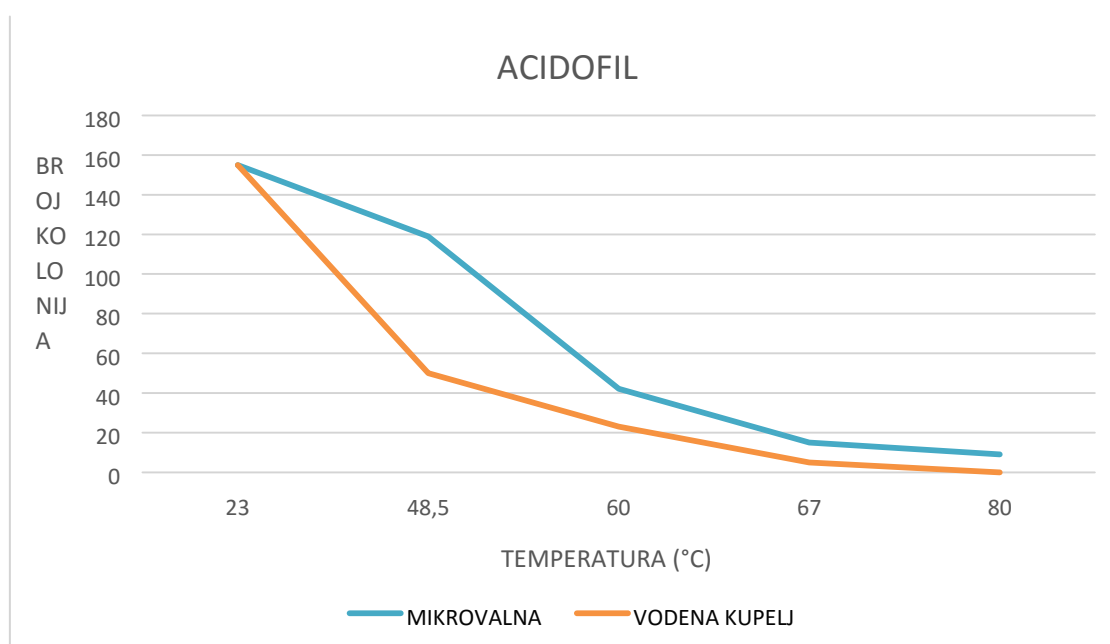
Isto tako, acidofilno mlijeko je mliječni proizvod koji je obogaćen raznim sojevima probiotika. On je nešto gušći od običnoga mlijeka, stoga se u pokusima koristila otopina jer bi inače acidofilno mlijeko denaturiralo tj. koaguliralo.

REZULTATI DOBIVENI SERIJAMA ZAGRIJAVANJA ACIDOFILA U MIKROVALNOJ PEĆNICI I VODENOJ KUPELJI

U istraživanju su napravljene četiri serije zagrijavanja za svaki uzorak. U mikrovalnoj pećnici uzorak razrijeđenog acidofila bio je grijan u vremenu od: 30, 40, 50 i 60 sekundi. Temperature koje su nakon zagrijavanja u mikrovalnoj pećnici postignute navedene su u Tablici 1. Do tih temperatura zagrijani su uzorci acidofila u vodenoj kupelji. Kontrolni netretirani uzorak razrijeđenoga acidofila bio je na sobnoj temperaturi (23 °C) i atmosferskom tlaku (101,3 kPa).

Tablica 1. Uzorak acidofila razrijeđen sterilnom vodom (1:2). Uzorak je zagrijan u mikrovalnoj pećnici u određenom vremenskom periodu. Navedene su temperature do kojih je uzorak zagrijan te kontrolno mjerenje.

vrijeme/ s	30	40	50	60	netretirano
t/ °C	48,5	60	67	80	23



Slika 1: Broj kolonija mikroorganizama u 100 µL acidofila zagrijavanog u mikrovalnoj pećnici i u vodenoj kupelji

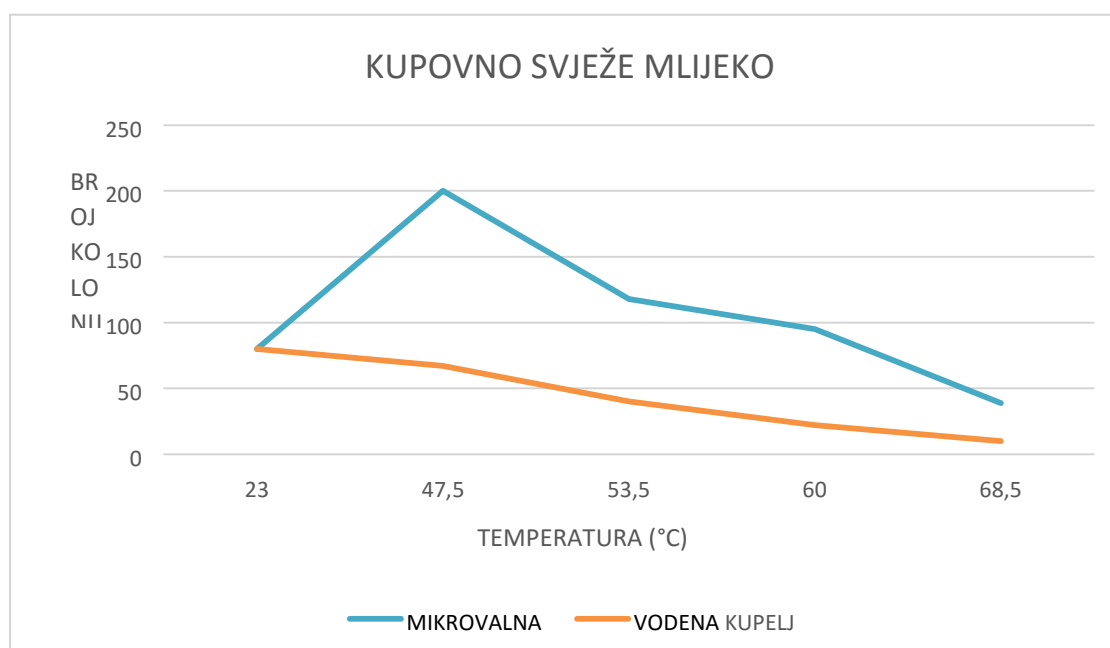
Slika 1. prikazuje kako se povećanjem temperature mikroorganizmi u acidofilu uništavaju. Mikrovalna pećnica je svojim radom uništila manje mikroorganizama u acidofilu od vodene kupelji.

REZULTATI DOBIVENI SERIJAMA ZAGRIJAVANJA KUPOVNOG SVJEŽEG MLIJEKA U MIKROVALNOJ PEĆNICI I VODENOJ KUPELJI

U istraživanju su napravljene četiri serije zagrijavanja za svaki uzorak. U mikrovalnoj pećnici uzorak kupovnog svježeg mlijeka bio je grijan u vremenu od: 30, 40, 50 i 60 sekundi. Temperature koje su nakon zagrijavanja u mikrovalnoj pećnici postignute navedene su u Tablici 2. Do tih temperatura zagrijani su uzorci kupovnog mlijeka u vodenoj kupelji. Kontrolni netretirani uzorak bio je na sobnoj temperaturi (23 °C) i atmosferskom tlaku (101,3kPa).

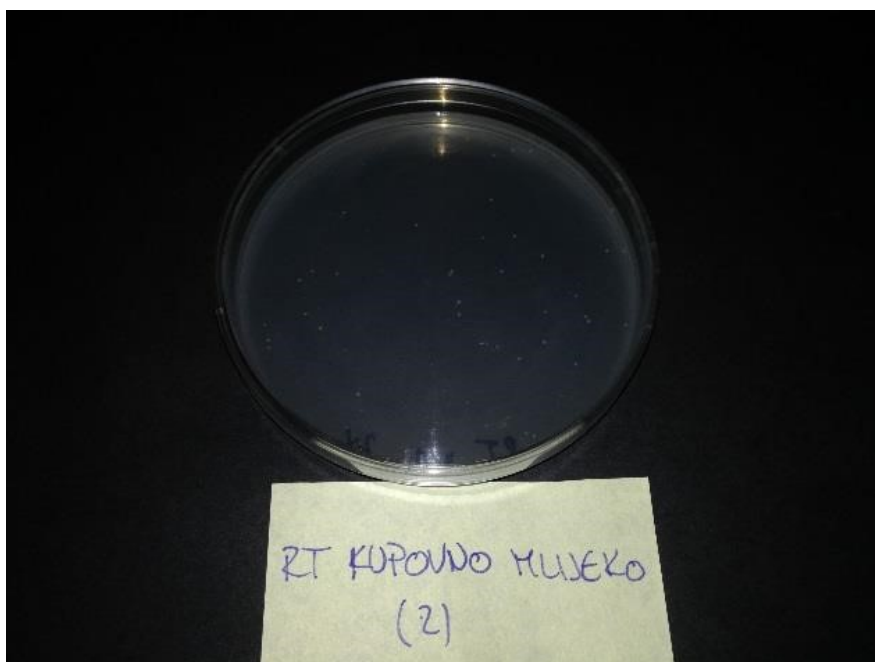
Tablica 2. Uzorak kupovnog svježeg mlijeka je zagrijan u mikrovalnoj pećnici u određenom vremenskom periodu. Navedene su temperature do kojih je uzorak zagrijan te kontrolno mjerenje.

vrijeme/ s	30	40	50	60	netretirano
t/ °C	47,5	53,5	60	68,5	23



Slika 2. Broj kolonija mikroorganizama u 100 µL kupovnog mlijeka zagrijavanog u mikrovalnoj pećnici i u vodenoj kupelji

Slika 2. prikazuje ovisnost temperaturnih promjena na preživljavanje mikroorganizama u kupovnom svježem mlijeku. Zagrijavanjem u mikrovalnoj pećnici u određenom razmaku raste broj kolonija, a zatim vrijednosti padaju kao i kod temperaturno analognih uzoraka zagrijanih u vodenoj kupelji.



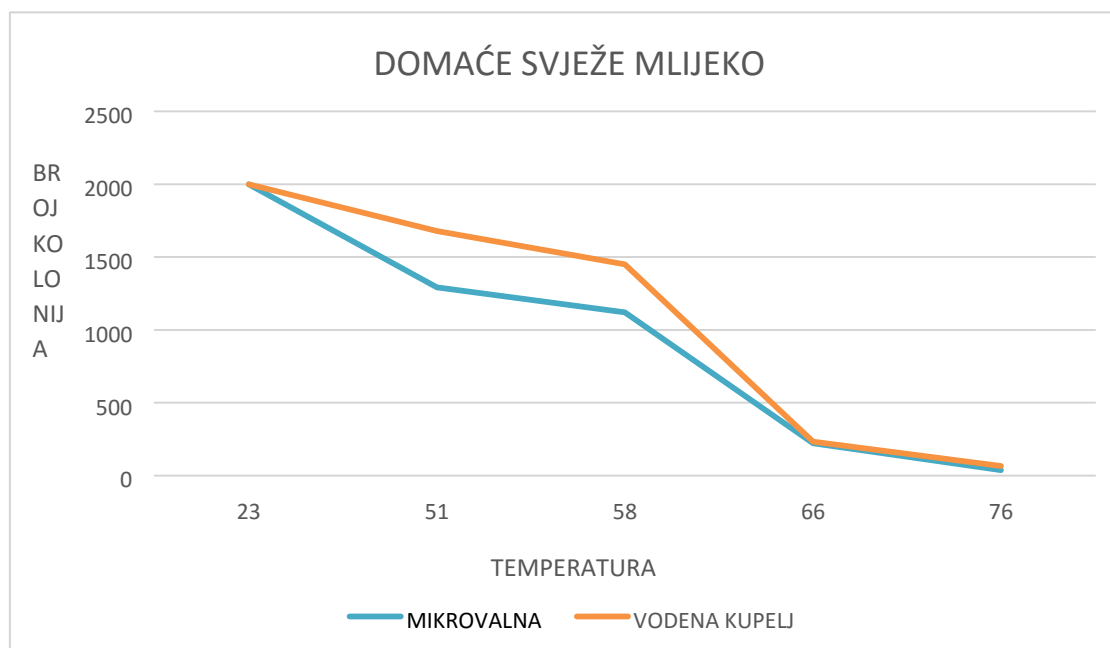
Slika 3. Kolonije mikroorganizama koje su narasle nakon nasađivanja netretiranog uzorka kupovnog svježeg mlijeka

REZULTATI DOBIVENI SERIJAMA ZAGRIJAVANJA DOMAĆEG SVJEŽEG MLJEKA U MIKROVALNOJ PEĆNICI I VODENOJ KUPELJI

U istraživanju su napravljene četiri serije zagrijavanja za svaki uzorak. U mikrovalnoj pećnici uzorak razrijeđenog domaćeg svježeg mlijeka bio je grijan u vremenu od: 30, 40, 50 i 60 sekundi. Temperature koje su nakon zagrijavanja u mikrovalnoj pećnici postignute navedene su u Tablici 3. Do tih temperatura zagrijani su uzorci domaćeg mlijeka u vodenoj kupelji. Kontrolni netretirani uzorak bio je na sobnoj temperaturi (23 °C) i atmosferskom tlaku (101,3kPa).

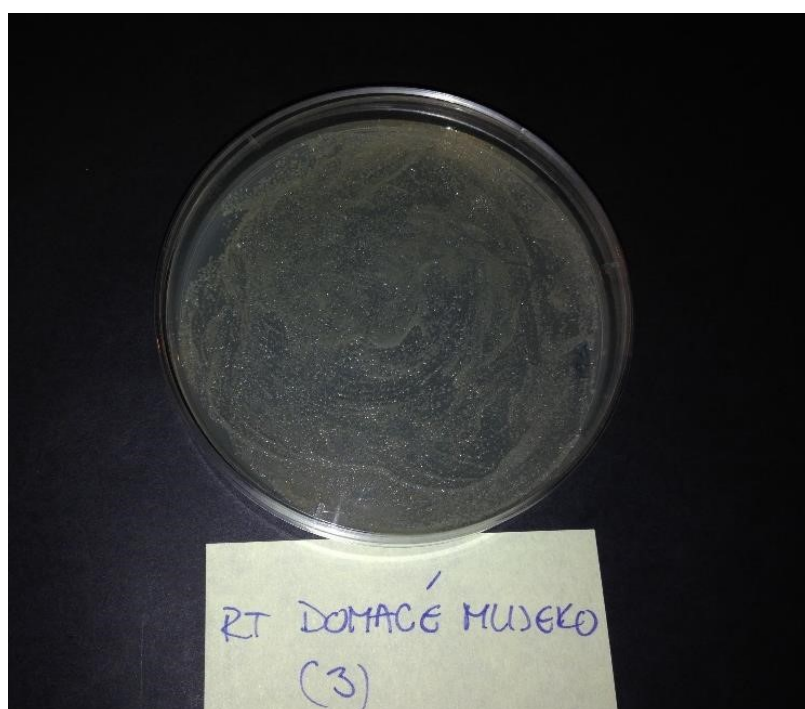
Tablica 3. Uzorak domaćeg svježeg mlijeka razrijeđen sterilnom vodom (1:2). Uzorak je zagrijan u mikrovalnoj pećnici u određenom vremenskom periodu. Navedene su temperature do kojih je uzorak zagrijan te kontrolno mjerenje

vrijeme/ s	30	40	50	60	netretirano
t/°C	51	58	66	76	23



Slika 4. Broj kolonija mikroorganizama u 100 μ L domaćeg svježeg mlijeka zagrijavanog u mikrovalnoj pećnici i u vodenoj kupelji.

Slika 4. prikazuje ovisnost temperaturnih vrijednosti na preživljavanje kolonija mikroorganizama u domaćem svježem mlijeku. Zagrijavanjem u mikrovalnoj pećnici broj kolonija mikroorganizama pada kao i u vodenoj kupelji, no više kolonija je preživjelo zagrijavanje u vodenoj kupelji.



Slika 5. Kolonije mikroorganizama koje su narasle nakon nasađivanja netretiranog uzorka domaćeg svježeg mlijeka



RASPRAVA

Kako bi se istražilo djelovanje temperature na mikroorganizme u mliječnim proizvodima ispitani su sljedeći mliječni proizvodi: jogurt marke NTL s 2.8 % mliječne masti, jogurt Vitaktiv Z'bregov, acidofil Z'bregov, svježe mlijeko Z'bregov i svježe domaće mlijeko. Budući da u netretiranim uzorcima jogurta marke NTL i Vitaktiva nasađenim na hranjivu LB podlogu nisu narasle nikakve kolonije mikroorganizama, s navedenim uzorcima nije se dalje radilo.

Ovaj rezultat bio je neočekivan, naročito za probiotički jogurt Vitaktiv koji bi trebao sadržavati živu probiotičku kulturu. Mogući uzrok tome mogli bi biti nepovoljni uvjeti rasta (sobna temperatura) i nepovoljna hranjiva podloga ili nedostatak živog probiotika u tim proizvodima. Potrebno je naglasiti kako kupovno mlijeko ima 10 puta manje mikroorganizama od domaćeg svježeg mlijeka jer je ono bilo tretirano industrijskom pasterizacijom.

Dobiveni rezultati pokazuju kako se najmanje probiotika nalazi u kupovnom svježem mlijeku, što je bilo očekivano, jer je ono prošlo termičku obradu.

U acidofilu se nalazi mnogo više probiotika nego u mlijeku što je očekivano jer je taj mliječni proizvod obogaćen probiotičkom kulturom *Lactobacillus acidophilus*.

Kao što je bilo i očekivano, domaće svježe mlijeko ima najviše probiotika, jer nije prošlo proces industrijske pasterizacije kao kupovno svježe mlijeko, stoga se u njemu nalazi 10 puta više mikroorganizama.

Analizom dobivenih rezultata za svaki pojedini uzorak u serijama pokusa zaključuje se da postavljena hipoteza nije sasvim točna.

Postavljena hipoteza vrijedi samo za domaće svježe mlijeko. Ono u svim serijama pokusa jasno pokazuje da mikrovalna pećnica jače uništava kolonije mikroorganizama svojim radom od vodene kupelji. S druge strane, zagrijavanje uzoraka u mikrovalnoj pećnici vremenski je mnogo kraće od zagrijavanja u vodenoj kupelji, što znači da su mikroorganizmi ukupno kroz kraći vremenski period izloženi povišenim temperaturama ako se zagrijavaju mikrovalovima.

Mikrovalna pećnica koristi energiju mikrovalova za grijanje, no mikrovalovi djeluju samo na molekule vode i masti koje se nalaze u hrani. Molekule vode i masti apsorbiraju energiju iz mikrovalova u procesu dielektričnog zagrijavanja, što rezultira titranjem molekula. Učestalim titranjem i gibanjem molekula zagrijava se hrana, a nastala toplina širi se kroz uzorak.

Kod acidofila i kupovnog svježeg mlijeka uočeno je da se više mikroorganizama razvilo na uzorcima zagrijanim u mikrovalnoj pećnici. Vrijeme potrebno za zagrijavanje uzoraka u vodenoj kupelji do određene temperature bilo je znatno duže.

ZAKLJUČCI

Povišena temperatura općenito djeluje štetno na mikroorganizme u mliječnim proizvodima, što znači da se nikako ne preporuča zagrijavanje proizvoda koji sadrže probiotičke kulture i mikroorganizme korisne za ljudsko zdravlje.



Mikrovalno zračenje je ekvivalentno za sterilizaciju kao i termička obrada konvencionalnim metodama koje se temelje na zagrijavanju. Budući da je zagrijavanje mlijeka puno brže, a uništavanje mikroorganizama u svježem domaćem mlijeku i efikasnije kad se koriste mikrovalovi, sigurno bi se moglo uštedjeti mnogo energije kad bi se mikrovalovi, umjesto sterilizacije vodenom parom, mogli koristiti u industriji.

Vrlo je važno da svi mliječni proizvodi prođu potrebne procese (pasterizacija, sterilizacija, obrada u strogo kontroliranim uvjetima) kako bi gotovi plasirani proizvod bio siguran za daljnju konzumaciju, ali ti procesi uništavaju većinu probiotika i ostalih mikroorganizama koji su dobri za naše zdravlje.

LITERATURA

- Alegro, A., Krajačić, M., Lucić, A. 2014. *Život 2*. Zagreb: Školska knjiga.
- Dolenec, Z., Rusak, G. 2011. *Živi svijet 2*. Zagreb: PROFIL.
- Ilić, S., Zdražil, L. 1997. *Školski leksikon biologije*. Zagreb: HINUS.
- Krsnik-Rasol, M., Krajačić, M., Lukša, Ž. 2014. *Život 1*. Zagreb: Školska knjiga.
- Nester, Eugene W., Anderson, Denise G., Roberts, C. Evans, Jr., Pearsall, Nancy N., Nester, Martha T., 2001. *MICROBIOLOGY: A HUMAN PERSPECTIVE (third edition)*. New York: McGraw-Hill Higher Education.
- Park DK., Bitton G., Melker R. 2006. *Microbial inactivation by microwave radiation in the home environment*. J Environ Health. 69(5): 17-24
- Pavletić, Z. 1978. *MIKROBIOLOGIJA* Zagreb: Sveučilišna naklada Liber.
- Živković, R., Hadžiosmanović, M., Oberiter, V. 1995. *Mlijeko – Medicinski i prehrambeni problemi (izabrane teme)*. Zagreb: HAMZ.

UTJECAJ VRSTE PODLOGE NA BRZINU RASTA BUKOVAČA (*PLEUROTUS OSTREATUS*)

Melita Kovačić, 2. razred

Laura Mayer, 2. razred

Gimnazija Tituša Brezovačkog, Zagreb

Mentor: Branka Horvat

SAŽETAK

Gljiva bukovača (*Pleurotus ostreatus*) jestiva je gljiva iz porodice stapčarki čiji se uzgoj, zbog lakoće i odličnih nutritivnih vrijednosti, u zadnje vrijeme proširio diljem svijeta. Uzgoj bukovača ostvariv je na mnogo različitih podloga. U ovom je radu ispitan utjecaj nekoliko različitih vrsta supstrata i dodataka supstratima na rast bukovača. Napravljene su četiri pokusne podloge od kojih je kontrolna bila isključivo slama, često korišten supstrat u komercijalnom uzgoju bukovača. Podlozi 2 je uz slamu dodan pepeo kako bi se testirao utjecaj alkalnosti pepela na rast gljiva, dok su u podlozi 3 bili talog kave i slama u jednakim omjerima. Podloga 4 sadržavala je samo talog kave. Najbolje rezultate dala je podloga 2 dokazujući da bukovačama najviše odgovara pomalo alkalno tlo uz dodatak kemijskih spojeva prisutnih u pepelu.

Ključne riječi: gljiva bukovača (*Pleurotus ostreatus*), vrsta supstrata, dodatci supstratima

UVOD

Carstvo gljiva (Mycota) čine dva odjeljka: gljive sluznjače (Myxophyta) i prave gljive (Funghi) (Nikolić 2002.). Prave gljive su najraširenija skupina gljiva. One su složene građe, a često postignu i vrlo visoki stupanj specijalizacije. Tijelo gljiva je uvijek višestanično, a sastoji se od vegetativnog tijela ili micelija i plodnog tijela ili plodišta. Stijenke hifa su kod najprimitivnijih gljiva od celuloze, a kod razvijenijih od hitina. Za gljive sluznjače je značajno da im stanice nisu obavijene čvrstom membranom već samo plazmatskom pa se može reći da su te stanice "gole". Vegetativno tijelo tih gljiva naziva se plazmodij, a ima sluzastu konzistenciju i može se pokretati ameboidno, puzeći po podlozi.

Gljive su svrstane u zasebno carstvo jer posjeduju karakteristike biljaka i životinja, ali se i uvelike razlikuju od ostalih višestaničnih organizama. Sličnosti gljiva i životinja su heterotrofan način prehrane što podrazumijeva uzimanje hranjivih tvari iz okoline i nemogućnost proizvodnje vlastite hrane na način na koji to rade biljke (fotosintezom). Gljive kao pričuvne tvari imaju i glikogen i masti (rijetko manitol), što je jedna od karakteristika koju dijele s životinjama (Alegro i sur. 2014.). Već spomenuta hitinska stijenka je također jedno od zajedničkih obilježja sa životinjama. Hitin se može naći u tvrdim dijelovima člankonožaca. Gljiva izlučuje probavne enzime u podlogu na kojoj raste i zatim upija nastale organske molekule. Gljive mogu probiti celulozne stanične stijenke u tkivu drveta i upiti glukozu. Poput biljaka, gljive uzimaju hranjive tvari cijelom površinom tijela.

Gljive su heterotrofni organizmi koji mogu biti i saprofiti i paraziti, a često ih nalazimo i u simbiotskim zajednicama. Razlažući organske tvari uvelike sudjeluju u kruženju tvari u prirodi i sprječavanju bolesti koje bi se mogle razviti iz trulih ostataka biljaka i životinja. One su uz bakterije glavni razlagači i stoga veoma važne u prirodi (Alegro i sur. 2014.).

Građa gljiva

Gljive su građene od nakupina stanica u obliku tankih, duguljastih niti, koje nazivamo hife. Mreža hifa koja prodire kroz organsku podlogu na kojoj raste gljiva (tlo, drvo, tkivo, organizam) naziva se micelij. Hife u miceliju mogu biti međusobno odijeljene poprečnom stijenkom pa za takav micelij kažemo da



je pregrađen ili septiran. Izmjena citoplazme i jezgara među stanicama odvija se kroz otvore u stijenkama (porusi). To je još jedna bitna osobina po kojoj se gljive razlikuju od ostalih mnogostaničnih organizama (Alegro i sur. 2014.).

Micelij se može prostirati vrlo velikom površinom (do 1500 m²) i živjeti više godina. Životni vijek micelija proteže se od jedne do čak sto godina, ovisno o gljivi (Johnson 2000.). Iz micelija se razvija nadzemno tijelo kompleksne strukture - plodište, također građeno od isprepletene mreže hifa. Plodište se u narodu naziva gljivom, ali to je samo njezin vidljivi dio, znatno kraćeg životnog vijeka od micelija. Ukoliko je riječ o stapčarki na plodištu razlikujemo stručak (stapku) i klobuk.

Gljive mogu živjeti samostalno, ali i kao paraziti ili u simbiozi s drugim organizmom. Parazitska zajednica se temelji na jednosmjernom iskorištavanju jednog organizma na dobrobit drugoga. Parazitske gljive najčešće razvijaju svoj micelij u međustaničnim prostorima domadara (endoparaziti) ili razvijaju micelij na površini domadara (ektoparaziti). Osim što je saprofit, bukovača je ujedno i endoparazit (Sever 2008.). Za razliku od parazitske zajednice, simbioza je zajednica dvaju organizama koji ostvaruju uzajamnu korist. Simbiotska zajednica gljiva i nekih drugih organizama nije rijetka pojava. Najpoznatije simbiotske zajednice su mikoriza (zajednica korijena i gljiva) i lišaj (zajednica gljiva, algi i cijanobakterija). Takva simbioza funkcionira na način da gljive svojem simbiontu donose mineralne tvari i vodu te ga učvršćuju, a drugi simbiont (fotobiont) gljivi pribavlja hranjive tvari (šećer) (Alegro i sur. 2014.).

Bukovače (*Pleurotus ostreatus*)

Gljive bukovače (*Pleurotus ostreatus*) spadaju u koljeno stapčarki (Basidiomycota), koje ubrajamo u gljive s hitinskom stijenkom ili prave gljive (Mycobionta ili Funghi). Rastu u listopadnim šumama, a njihova plodišta se sakupljaju u kasnu jesen, ponekad i zimi. Rastu na različitim vrstama drveća i panjeva, razlažu ih te se stoga može reći da su parazitski i saprofitski organizmi. Iz mesnatog micelija izrasta mnoštvo plodišta, tako da se često stručak i ne vidi. Na naličju klobuka bukovače imaju listiće, pa su svrstane u lističarke (Božac 1995.).

Potražnja bukovača je velika zbog njihove lake proizvodnje, relativno brzog razvojnog ciklusa te mogućnosti uzgoja više cjelovitih ciklusa tijekom jedne godine. One su jestive i vrlo popularne u prehrani zbog svoje rasprostranjenosti. U Republici Hrvatskoj nakon šampinjona, bukovače su najčešće konzumirane gljive.

Po biokemijskom sastavu i prehranbenoj vrijednosti bukovače su bliske kvalitetnom povrću. Hitin u stijenkama spada u grupu dušičnih spojeva, te se gljive pokušava iskoristiti u prehrani kao zamjenu za meso. Svakako, gljive ne mogu nadomjestiti biološku i prehranbenu vrijednost mesa (Sever 2008.). Bukovače sadrže 6% ugljikohidrata, 3,5 % proteina, 2% vlakana, 1,4% šećera i ukupno 0,6 % masti. U vitaminskim tablicama gljiva česti su vitamini grupe B i D, a mnoge vrste sadržavaju i karotin (provitamin A) te vitamin E. Zbog vitamina D kojeg sadrže preporučuju se za prevenciju osteoporoze, a kako ne sadrže škrob pogodne su za osobe oboljele od dijabetesa. Također su bogate mineralnim tvarima poput kalija, fosfora, željeza i mnogim drugim (Zaninović 1984.).



OBRAZLOŽENJE TEME

Uzgoj bukovača ostvariv je na mnogo različitih podloga. U ovom je radu ispitan utjecaj nekoliko različitih vrsta supstrata i dodataka supstratima na rast bukovača.

Supstrati za uzgoj bukovača

Bukovače uspijevaju na različitim supstratima koji su bogati celulozom i ligninom, a većinom se proizvode na vrećama (Ibekwe i sur. 2008). Uobičajeni supstrati za uzgoj micelija bukovače su slama i piljevine. Najčešće se za uzgoj koristi slama žitarica (pšenice, ječma, zobi ili raži) ili slama s dodacima. Supstratima se mogu dodati hranjive tvari i minerali koji će pospješiti rast gljive. Uz slamu, uzgajivači gljiva često koriste tvari koje pomažu pri alkalizaciji podloge, kao na primjer pepeo jer se na taj način uklanjaju nepoželjni organizmi koji bi mogli naseliti podlogu.

U novije vrijeme istražuje se mogućnost primjene taloga kave kao supstrata. Talog kave kao supstrat ima mnoge prednosti (Fan i sur. 2001). Pristupačan je i jednostavan za korištenje u kućanstvu. Kava je poznata po tome što sadrži optimalne količine dušika, kalija i fosfora pa je idealno ekološko gnojivo. Zbog mnogobrojnih alkaloida, talog kave je dobar i kao tretman protiv nametnika. Ipak, količina taloga kave ne smije biti prevelika jer zbog mnogih nutrijenata pogoduje razvoju mikroorganizama. Talog kave može biti sastojak komposta, i organsko gnojivo za biljke, a istraživanja pokazuju da pomaže u održavanju idealne temperature u kompostištu. Talog se može nabaviti u kafiću, gdje se nakuplja u aparatima za kuhanje kave. Za razliku od slame, talog kave nije potrebno kuhati i dodatno termički obrađivati jer je već steriliziran u procesu kuhanja kave. Važno je pripaziti na svježinu taloga jer on također može biti hrana ostalim, tzv. kompetitivnim organizmima (druge gljive i bakterije). Talog se čuva tako da ne bude u doticaju sa zrakom i organizmima koji se šire zrakom.

Uzgajanje gljiva na talogu kave jedan je način iskorištavanja otpada nastalog tijekom pripreme napitka. Talog kave je i vrijedna sirovina za proizvodnju kvalitetnog biokomposta. Biootpad je kuhinjski otpad (ostaci od pripreme hrane) i vrtni ili zeleni otpad. Čini gotovo trećinu kućnog otpada. Recikliranjem organskog otpada smanjuje se opterećenje okoliša ugljikom i dušikom.

Ostali uvjeti za uzgoj bukovača

Gljive su organizmi koji imaju jasne okolišne čimbenike zbog kojih ih je lako uzgajati – velika količina vlage, široka temperaturna valencija, rast bez veće količine svjetlosti u okolišu i slično. Vrlo brzo se šire te na taj način mogu osigurati i financijsku dobit. Bukovače se jednostavno uzgajaju, najčešće na slami. Prinos gljiva se računa na temelju mase vlažnog supstrata, a kreće se od 30 % do 60 %, zavisno o uvjetima uzgoja i stručnosti uzgajivača. Iskorišten supstrat se može iskoristiti kao odlično organsko gnojivo. Vrećice u kojima se gljive uzgajaju mogu se naslagati jedna na drugu te tako smanjiti prostor koji zauzimaju. Miceliju je potrebno dva do tri tjedna da proraste. Prilikom rasta micelija potrebno je održavati temperaturu prostorije na 22 °C - 26 °C. Dok micelij ne proraste, gljivi je potrebna minimalna briga, dovoljno je povremeno pratiti njezin napredak. Kada micelij proraste kroz supstrat vrećice sa supstratom očvrstnu i postanu bijele. U toj fazi rasta gljivama je potrebno osigurati adekvatne uvjete za daljnji razvoj. Vлага u prostoriji mora biti oko 90 % a temperatura zraka 16 °C do 24 °C. Dva dana prije berbe vlagu treba smanjiti na oko 75 % - 80 %, kako bi se spriječila deformacija i prekomjerna sluzavost klobuka. Vlagu u prostoriji treba održavati ručno (prskalicom za vodu) ili automatskim raspršivačem vlage, koji je skuplja opcija. Gljivi smeta direktna svjetlost, ali unatoč



uvriježenom vjerovanju da gljive vole mrak, one ne mogu u njemu preživjeti. Gljivi je, dakle, potrebna indirektna svjetlost koju nije teško dobiti ukoliko se prozori prostorije zamrače, a mogu se koristiti i svjetiljke. Svjež zrak je potreban gljivama, pogotovo u procesu stvaranja plodišta. Tada gljive intenzivnije dišu, a nastali CO₂ može dovesti do deformacije plodišta. Zato je u toj fazi vrlo važno vjetriti prostoriju u kojoj se uzgajaju gljive.

MATERIJAL I METODE RADA

Područje istraživanja čine gljive roda *Pleurotus*, bukovače. Uzorak micelija za istraživanje i kratko predavanje o metodama uzgoja održali su volonteri udruge „Zelena mreža aktivističkih grupa“ (ZMAG, XI/2014.).

Materijali

Eksperimentalni materijal

Eksperimentalni materijal bio je micelij gljive bukovače (*Pleurotus ostreatus*) dobiven od profesionalnog uzgajivača gospodina Stjepana Kovačevića, posredstvom udruge ZMAG. Micelij se prethodno razvijao na raži jer raž ima ulogu nosača micelija te također osigurava potrebne hranjive tvari.

Slama je također dobivena posredstvom udruge ZMAG, a svježi talog kave iz jednog kafića u blizini škole.

Hranjive podloge

U istraživanju su korištene četiri vrste hranjivih podloga. U daljnjem tekstu podloge su označene brojevima od 1 do 4, a u tablici 3.1. dan je pregled sastava svih korištenih podloga. U istraživanju svakog tipa podloge korištene su tri pojedinačne vrećice, dakle bilo je sveukupno 12 pojedinačnih uzoraka. Računaju se srednje vrijednosti dobivenih rezultata.

Tablica 1 - Podloge

PODLOGA	SASTAV PODLOGE
PODLOGA 1	SLAMA
PODLOGA 2	SLAMA I PEPEO (50:1)
PODLOGA 3	SLAMA I TALOG KAVE (1:1)
PODLOGA 4	TALOG KAVE

Podloga 1 (samo slama) bila je kontrolna skupina jer sadrži pretežno celulozu koja je primarna hrana gljiva u uzgoju (slika 1).

Podloga 2 razlikuje se od podloge 1 po tome što je slami dodan pepeo (2 g pepela na 100 g podloge 1). Svrha pepela je povećati alkalnost supstrata i dodati mineralne tvari (slika 1).

Na podlozi 3 kombinirani su talog kave i slama u omjeru 1:1 (slika 2); podloga 4 sadržavala je isključivo talog kave (slika 2).



Slika 1 - Podloga 1 (kontrolna, slama) i podloga 2 (slama, pepeo)



Slika 2 - Podloga 3 (slama, talog kave) i podloga 4 (talog kave)

Kemikalije

U svrhu uspješne provedbe istaživanja i sprječavanja širenja neželjenih mikroorganizama korišteni su 70%-tni etanol i sapun za ruke. Korištena voda bila je vodovodna, ali prethodno termički obrađena.

Metode

Priprema podloga za rast gljiva

Za izradu podloga za rast gljiva korištena je slama koju je bilo potrebno izrezati na manje komadiće (slika 3). Na taj je način povećana ukupna dodirna površina, s ciljem da se poveća rast i gljivi olakša iskorištavanje hranjivih tvari iz supstrata. Slama je nakon toga tretirana sat vremena na temperaturi između 65 °C i 75 °C. Prije same termičke obrade slame, potrebno je vodu zagrijati na temperaturu od 65 °C i tek onda dodati slamu. Pri termičkoj obradi, potrebno je paziti na održavanje temperature u navedenom rasponu (slika 3). Previsoka temperatura može značajno smanjiti količinu hranjivih tvari u slami. Pri zagrijavanju je dodan sapun (1 čajna žličica na 1L slame u vodi) s ciljem sprječavanja neželjenog širenja mikroorganizama u podlozi, a pri tomu ne šteteći rastu i kvaliteti gljiva. Talog kave već je bio termički obrađen (110 °C pod visokim tlakom) prilikom pripreme kavenog napitka u aparatu. Talog kave je nužno tretirati na toliko visokoj temperaturi kako bi se uklonio veći broj potencijalnih nametnika koji bi mogli štetiti razvoju gljive. Iz istih razloga su tijekom pripreme podloge za rast gljiva korištene dezinficirane lateks rukavice, a radna površina je prethodno pažljivo i cjelovito očišćena pomoću 70%-tnog etanola.



Slika 3 - Slamu je bilo potrebno nasjeckati na komadiće veličine oko 5cm; Pri kuhanju je bilo potrebno održavati slamu na stalnoj temperaturi 65 – 75°C

Nakon što je slama (talog kave) ohlađena na 30 °C, posipavanjem je dodan micelij bukovače (slika 4) u količini od jedne jušne žlice micelija na 100 g unaprijed pripremljene podloge. Nakon toga je micelij ravnomjerno raspoređen u podlozi miješanjem rukama, a zatim su uzorci pripremljenih podloga premješteni su u plastične vrećice kako se ne bi kontaminirale na zraku. Vrećice su potom dobro zatvorene te je na njima dezinficiranim škarama izbušeno šest otvora koji su zatvoreni poroznom pamučnom trakom.

Nakon što su sve vrećice bile zatvorene, njihova je masa bila odvagana (tablica 2).



Slika 4 - Micelij bukovače (*Pleurotus ostreatus*) na zrnima žitarice (raži)

Tablica 2 - Odvage podloga s micelijem

podloga	masa podloge s micelijem, g			srednja vrijednost
1	111.7	130.2	118.0	120.0
2	156.2	114.5	168.3	146.3
3	114.6	114.5	117.6	115.6
4	124.3	112.5	113.0	116.6

Uzgoj gljiva u kontroliranim uvjetima

Nakon što su podloge s micelijem pripremljene i odvagane, ostavljene su da se micelij samostalno razvija u vremenskom periodu od 17 dana u kontroliranim uvjetima temperature i vlage okoliša.

Za vrijeme rasta micelija nije bilo potrebno tretirati gljive ni na koji način već ih pustiti da se samostalno razviju. Nakon što se micelij dovoljno razvio, uklonjene su porozne trake te je na taj način

osigurano mjesto za rast mladih gljiva. Nakon tog trenutka prostori je bilo potrebno vlažiti ručnim raspršivačem vode te gljivama osigurati indirektnu svjetlost.

Tijekom istraživanja svakodnevno je praćen rast gljiva te su rezultati, kvalitativni i kvantitativni, prikazani numerički, opisno i grafički.

Cijelo je istraživanje trajalo 50 dana.

Praćenje i analiza rezultata

Rezultati su bilježeni redovitim vođenjem dnevnika te fotografijama (fotoaparat Canon EOS 1100D). Svi grafički prikazi izrađeni su u Microsoft Excelu (2010.).

REZULTATI

Hife micelija u rastu postale su vidljive 10 dana nakon početka istraživanja, kada su sve vrste podloga počele bijeliti. Nakon još tjedan dana rasta, miceliji su u potpunosti prorasli podloge i vrećice su postale gotovo u potpunosti bijele i čvrste. Miceliji su se jednako dobro razvili na svim ispitanim površinama podlogama

Na podlozi 1 koja je sadržavala samo slamu zamijećen je veoma spori rast plodišta. Na 27. dan pokusa formirala se čvrsta struktura za koju se pretpostavilo da je plodište, ali nije bilo naznake klobuka niti se mogao razlikovati stručak od klobuka. Izraslina se nije dalje razvijala (slika 5). Na 45. dan promatranja, plodište manje od 1 cm koje je izbilo na površinu osušilo se. Identičan obrazac rasta bio je prisutan na sva tri uzorka podloge sa slamom (podloga 1). Kvantitativni rast plodišta gljiva zaostajao je u usporedbi s preostale tri skupine.



Slika 5 - Podloga 1 na 40. dan istraživanja. Strelice označavaju zakržljala plodišta

Na podlozi 2 koja je sadržavala slamu uz dodatak pepela zamijećen je brži rast gljiva u odnosu na podlogu 1. Već nakon 25 dana istraživanja, plodišta gljiva su probila vrećicu. Na 39. dan uzgoja na jednom je uzorku podloge 2 uočeno osam ispupčenih tamnosmeđih klobuka promjera 3-8 mm. Tog dana na drugom uzorku iste podloge zamijećeno je veliko plodište unutar vrećice. Plodišta su tijekom sljedećih nekoliko dana pokazivala najbrži razvoj u odnosu na plodišta s ostale tri vrste podloga. Klobuci su bili mesnati i zdravi, karakteristične sivosmeđe boje. Nakon 40 dana ispod klobuka gljive zamijećeni su listići karakteristični za bukovače (slika 6). Na 44. dan istraživanja primijećeno je da su se plodišta osušila i smežurala (slika 7). Plodišta se nisu vidno oporavila nakon intenzivnijeg prskanja.



Slika 6 - Podloga 2 na 40. dan istraživanja



Slika 7 - Podloga 2 na 44. dan istraživanja

Na podlozi 3 koja je sadržavala slamu uz dodatak taloga kave primijećen je rast plodišta koja su svojom kvalitetom i kvantitetom nadmašila ona narasla na podlozi 1 i 4, ali ne i podlozi 2. Prvo plodište je probilo vrećicu nakon 27 dana uzgoja. Sljedećih su dana plodišta rasla relativno brzo, ali i dalje zaostajući za drugom skupinom. Plodišta podloge 3 su bila prilično velika, ali zavinuta i izgledom su se razlikovala od plodišta gljiva na podlozi 2 (slika 8). Neposredno prije vaganja (47. dan istraživanja) klobuci plodišta su imali promjer 4 cm. Slično kao plodišta gljiva raslih na podlozi 2, plodišta rasla na podlozi 3 mjestimično su se ili potpuno osušila nakon 50 dana uzgoja.



Slika 8 - Podloga 3 na 45. dan istraživanja

Na podlozi 4 koja je sadržavala samo talog kave najranije je primjećen razvoj plodišta. Tijekom daljnjeg uzgoja, na podlozi 4 plodišta su brže rasla nego na podlozi 2, ali su pokazivala znakove zakržljivosti te su bila mnogo svjetlija od plodišta raslih na podlogama 2 i 3. Iako približno jednakog promjera kao i na drugim podlogama (4 cm), klobuk je bio nešto tanji i njegova gornja površina bila je naborana (slika 9). Stručak koji je bio vidljivo zakržljao u odnosu na stručke plodišta naraslih na podlogama 2 i 3 i njegovi listići nisu bili toliko mesnati. Kvalitetom i kvantitetom plodišta rasla na podlozi 4 su zaostajala za svim podlogama osim podloge 1.

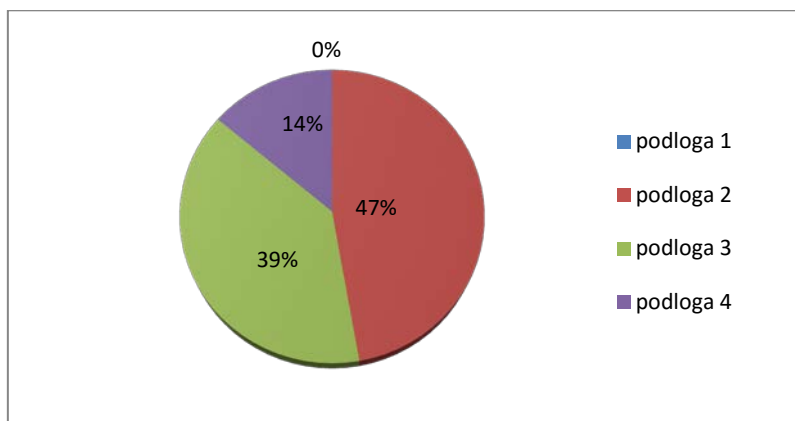


Slika 9 - Podloga 4 na 45. dan istraživanja

Tablica 3 - Učinak sastava podloge na brojnost plodišta gljiva bukovača. Prikazani rezultati temelje se na tri mjerenja na kraju istraživanja (50. dan)

PODLOGA	Broj plodišta s razvijenim klobucima	Prosječan broj plodišta	Broj plodišta s razvijenim klobukom promjera ≥ 1 cm	Prosječan broj plodišta s klobukom promjera ≥ 1 cm	Udio plodišta ≥ 1 cm (%) na pojedinoj podlozi
podloga 1	3	1	0	0	0
podloga 2	22	7	17	6	77
podloga 3	20	7	14	5	70
podloga 4	17	6	5	2	29
UKUPNO	62	-	36	-	-

Brojeći razvijene klobuke gljive *Pleurotus ostreatus* na uzorcima svih ispitivanih podloga na kraju istraživanja došli smo do zaključka da je podloga 2 urodila najvećim brojem razvijenih klobuka (17), podloga 3 na kraju istraživanja imala je sveukupno 14 razvijenih klobuka, dok su podloge 1 i 4 značajno zaostajale s ukupnim brojem od 0 (podloga 1), odnosno 5 (podloga 4). Klobuci promjera manjeg od 1 cm zanemareni su (slika 10).

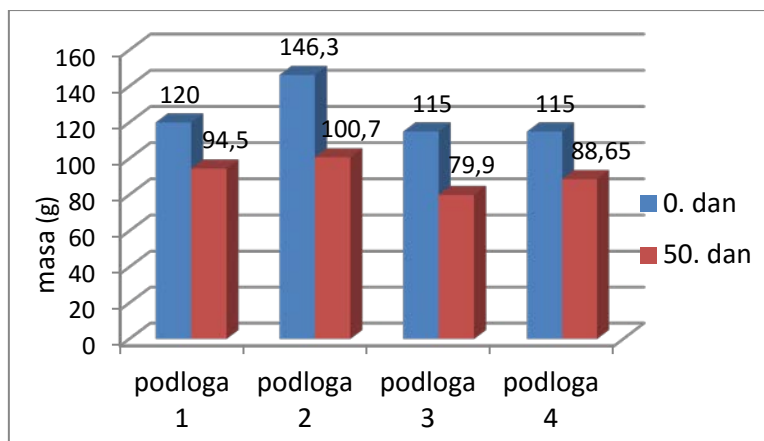


Slika 10 - Udio plodišta s klobukom ≥ 1 cm na svim ispitanim podlogama

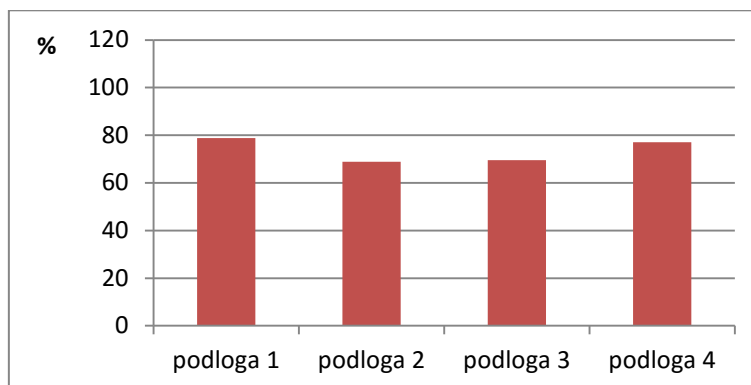
Tablica 4 - Učinak sastava podloge na rast (svježa masa) plodišta gljiva bukovača nakon 50 dana uzgoja. Prikazani rezultati su srednja vrijednost odvage 3-5 reprezentativnih uzoraka iz svake skupine. Izvagana su samo plodišta s klobukom promjera ≥ 1 cm.

PODLOGA	Ukupna svježa masa plodišta (g)	Broj izvaganih plodišta	Prosječna svježa masa plodišta (g)
podloga 1	0	0	0
podloga 2	5.9	4	1.5
podloga 3	2.3	3	0.8
podloga 4	10.1	5	2.2

Odvaga pojedinačnih podloga s micelijem i plodištima na 0. i na 50. dan promatranja značajno se razlikovala (slika 4.7.), najvećim dijelom zbog velikog udjela vode koji je bio prisutan na početku istraživanja (0. dan). Voda je tijekom vremena isparila rezultirajući manjom ukupnom masom svih podloga. Na slici 4.8. prikazane su srednje vrijednosti relativnih udjela odvaga podloga.



Slika 11 - Mase podloga (g) s micelijem na početku (0. dan) i nakon 50 dana istraživanja



Slika 12 - Udio (%) masa podloga s micelijem 50. dan u odnosu na početnu masu (količina vode i nutrijenata potrošenih na rast). Plava horizontalna linija predstavlja relativnu početnu masu (100 %)

RASPRAVA

Nakon provedenog istraživanja utvrđeno je da podloga 1 (samo slama) slabije pogoduje rastu plodišta bukovača u odnosu na podlogu 2 (slama s dodatkom pepela). Čista slama, unatoč tomu što sadrži dosta celuloze nema dovoljno drugih hranjivih sastojaka potrebnih za kvalitetan razvoj plodišta. Niti jedan klobuk iz podloge 1 nije dosegao promjer veći od 1 cm. Relativni maseni udio (%) podloga s micelijem 50. dan u odnosu na masu podloga s micelijem na dan početka istraživanja (0. dan) također ukazuje na usporen i loš rast na podlozi 1.

Podloga 2 pokazala se vrlo dobrom za rast plodišta bukovača. Osim što je urodila najvećim brojem gljiva, one su bile i najkvalitetnije. Jedno od objašnjenja moglo bi biti da je pepeo dodan ovoj podlozi gljivama pružio optimalnu pH vrijednost za njihov rast uz dodatak minerala sadržanih u njemu (oksidi, fosfati, sulfati, itd.). Podloga 2 odlikovala se i najvećim brojem plodišta s razvijenim klobukom po pojedinačnom uzorku (17) u odnosu na ostale podloge.

Podloga 3 (slama s dodatkom taloga kave) druga je po broju razvijenih plodišta s klobukom te se obzirom na njihovu kvalitetu smatra uspješnom. Pozitivni rezultati posljedica su dodavanja taloga kave čistoj slami. Talog kave je bogat hranjivim tvarima potrebnima gljivi za uspješniji razvoj plodišta. Veći rast na talogu kave primjetili su i Fan i sur (2006.). Kao što je spomenuto u rezultatima, plodišta gljiva iz podloge 3 kvalitetom i mesnatošću nisu zaostale za podlogom 2, ali su imale pomalo zavnut stručak i klobuk. Talog kave pokazao se kao dobar dodatak, ali ne i kao samostalna podloga.

Podloga 4 koja se sastojala samo od taloga kave odlikovala se gljivama koje su se na početku razvijale vrlo brzo, ali su vremenom gubile na kvaliteti. Talog kave, naime, nije rastresit. Podloga 4 bila je znatno zbijenija i vlažnija od ostalih podloga. Postoji mogućnost da se micelij proširio samo površinskim dijelovima podloge, gdje je imao pristup zraku, koji je vrlo važan gljivama. Moguće je i da hife micelija nisu mogle doprijeti do sredine podloge, pa nisu uspjele razgraditi dovoljno hranjivih sastojaka u kasnijim fazama rasta plodišta. Rahljenjem taloga kave može se gljivi omogućiti lakše uzimanje nutrijenata iz supstrata, ali time se riskira oštećenje micelija ukoliko se to radi previše grubo. Stoga bi se, ukoliko se dodaje u praksi, talog kave svakako trebao dobro prorahliti prije dodavanja supstratu. Talog kave je toliko hranjiv da sva literatura o uzgoju poljoprivrednih kultura na talogu kave upozorava na veliku mogućnost kontaminacije neželjenim mikroorganizmima. U ovom



istraživanju korišteni materijal je pravilno termički obrađen te je korišteni alat bio dezinficiran stoga niti jednu podlogu nisu naselili neželjeni mikroorganizmi.

Uzgoj bukovača, iako naizgled lagan, može predstavljati veliki izazov neiskusnim gljivarima jer se pri uzgoju mora paziti na mnogo čimbenika, a vlaga je jedan od najvažnijih. Prilikom uzgoja, zbog nedostatka vlage, gljive su se djelomično osušile, što je negativno utjecalo na njihov daljnji razvoj jer je usporilo ili zaustavilo njihov rast. Optimalnu vlagu u prostoriji teško je osigurati bez automatskog raspršivača vode i kvalitetnog higrometra, koji za uvjete školskog laboratorija predstavljaju veliki trošak. Ručno raspršivanje prskalicom učinkovito je ukoliko se ponavlja toliko redovito da vrećice s podlogama nikad ne budu suhe. U uvjetima masovne proizvodnje bukovača potrebno je paziti na vlagu kako bi se potpuno iskoristio ekonomski potencijal bukovača. Još jedan važan čimbenik je svjež zrak i vjetrenje, koji su gljivama potreban za stanično disanje. Pri uzgoju nije teško osigurati ostale čimbenike, no mora se detaljno proučiti dostupna literatura o samome uzgoju.

Na masu podloge značajno je utjecala i voda sadržana u podlozi. Vodu je gljiva crpila zajedno s hranjivim tvarima, a to je omogućilo učinkovit rast plodišta. Utjecaj vode na rast plodišta prikazan je na slikama 11 i 12. Podloge 2 i 3 izgubile su veći dio mase od podloga 1 i 4, a time se osiguralo više hrane za rast plodišta.

U tablici 4 prikazanoj u rezultatima pokazan je učinak sastava podloge na rast (svježu masu) plodišta gljiva bukovača nakon 50 dana uzgoja. Za izradu te tablice izvagano je 3 do 5 reprezentativnih uzoraka plodišta s podloga 2, 3 i 4. Oni su bili odabrani zbog njihovih približno jednakih dimenzija kako bi se dobili što točniji rezultati. Podloga 4 imala je najveću ukupnu svježu masu plodišta, no taj se podatak pripisuje malom broju izrazito razvijenih plodišta. Reprezentativnih uzoraka s podloge 4 je bilo više nego na ostalim podlogama zbog njihove veličine koja je nadmašivala plodišta s podloga 1 i 3. Uzimajući u obzir omjer broja naraslih plodišta ≥ 1 cm i prosječne svježe mase plodišta za pojedinu podlogu, može se procijeniti ukupan prinos za svaku podlogu. Rezultati ove procjene podudaraju se s kvantitativnim rezultatima. I prema ovom parametru podloga 2 pokazala se najuspješnijom.

Uzimajući u obzir brojnost i masu plodišta, rezultati ovog istraživanja ukazuju da bi za optimalan uzgoj bukovača bile pogodne podloge 2 i 3 (slama u kombinaciji s pepelom ili talogom kave). Pretpostavlja se da bi se podloga koja se sastoji od kombinacije slame, taloga kave i pepela u određenim omjerima mogla pokazati kao najpogodnija.

ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata dobivenih istraživanjem utjecaja supstrata i dodatka supstrata na brzinu rasta gljive bukovače (*Pleurotus ostreatus*) provedenim na četiri različite podloge mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Gljive su najbrže rasle na podlozi 2 koja se sastojala od slame i pepela u omjeru 50:1. Pepeo je svojim mineralnim sastavom i alkalnošću značajno ubrzao rast gljiva.
2. Slama se nije pokazala kao dovoljno hranjiv supstrat za isplativ uzgoj bukovača zbog nedostatka ostalih nutrijenata potrebnih za rast gljiva.
3. Pri uzgoju gljiva bilo je potrebno paziti na velik broj čimbenika, posebice na vlagu, čiji je nedostatak uzrokovao sušenje plodišta.



4. Talog kave kao jedini supstrat, iako vrlo hranjiv, nije se pokazao idealnim zbog njegove zbijenosti koja sprječava gljivu da širi svoje hife i tako uzima nutrijente iz samog taloga kave.

5. Talog kave se u kombinaciji sa slamom pokazao boljim supstratom od same slame. Svakodnevno se proizvode tone taloga kave koji bi se kao nusprodukt masovne svjetske potrošnje kave mogao koristiti kao nutritivni dodatak supstratu pri komercijalnom uzgoju bukovača (*Pleurotus ostreatus*). Osim toga, nakon berbe gljiva, prokorišten supstrat tvori odličan humus te je time vidljiva dvostruka vrijednost taloga kave.

LITERATURA

- Alegro, A., Krajačić, M., Lucić, A. (2014.): Život 2, udžbenik biologije u drugom razredu gimnazije. Školska knjiga, Zagreb.
- Božac, R. (1995.): Gljive: morfologija, sistematika, toksikologija. Školska knjiga, Zagreb.
- Fan L.; Socol A. T.; Pandey A., Vandenberghe L. P. S, Socol C. R. (2006.): Effect of Caffeine and Tannis on Cultivation and Fructification of *Pleurotus* on Coffee Husks. *Acta Biotechnologica*, 20(1): 41–52.
- Ibekwe V.I., Azubuike P.I., Ezeji E.U. and Chinakwe E.C. (2008.): Effects of Nutrient Sources and Environmental Factors on the Cultivation and Yield of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Pakistan Journal of Nutrition* 7(2): 349-351.
- Johnson, G. B. (2000.): *The Living World*. The McGraw-Hill Companies, Boston.
- Nikolić, T. (2002.): Botanika 2. Sistematika gljiva. (izvor: <http://hmgs.hr/zagorec/Dokumenti/botanikam2.pdf>, datum pregleda: 15. 3. 2015.).
- Sever, K. (2008.): Sistematika bilja, skripta. Šumarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. (izvor: http://www.sumfak.unizg.hr/download.aspx?file=/Upload/sec_001/ins_003/%C5%A0umarska%20botanika/Sistema%20I%20-%20SKRIPTA.pdf, datum pregleda: 15. 3. 2015.).
- Zaninović, M. (1984.): Vegetarijanska kuhinja. Sveučilišna naklada Liber, Zagreb.

HERBICIDNO DJELOVANJE PAJASENA (*Ailanthus altissima* Mill.) NA KLIJAVOST BILJAKA

Dunja Kureljak, 3. razred

Marta Radin, 3. razred

Srednja škola Mate Balote, Poreč

Mentor: Marija Žužić

SAŽETAK

Invazivne strane vrste jedan su od glavnih razloga smanjenja bioraznolikosti u cijelom svijetu. Pajasen – *Ailanthus altissima* Mill. listopadna je drvenasta biljka podrijetlom iz jugoistočne Azije. U Hrvatskoj i većini zemalja umjerenog pojasa vrlo je invazivna zbog sljedećih osobina: velika sposobnost obnavljanja i razmnožavanja, niski ekološki zahtjevi za rast, otpornost prema zagađenju i otpuštanje otrovnih (fitotoksičnih) spojeva. Upravo ova posljednja osobina osigurava mu više prostora za rast i eliminira konkurenciju, no ujedno pruža i mogućnosti korištenja u poljoprivredi kao sirovine za proizvodnju prirodnog biorazgradivog herbicida.

Cilj ovoga rada bio je dokazati herbicidni učinak pajasena na pšenicu i lucernu. Rađena su tri pokusa. Prva dva pokusa bazirala su se na proučavanju herbicidnog učinka korijena pajasena, a treći pokus na herbicidno djelovanje listova pajasena. Sijanjem sjemenki u tlu sakupljenom blizu stabla pajasena te 15 m od stabla pajasena utvrdilo se da je klijavost bila puno slabija u lončićima sa zemljom uzetom blizu pajasena. Sijanjem sjemenki u lončiće sa standardnom zemljom za sadnju kućnih biljaka u koje su prethodno izmiješani komadići korijena pajasena i ostavljeni da otpuste fitotoksične tvari vidjelo se da je pajasen ponovo ispuštao fitotoksine te je klijavost bila slabija u uzorcima s komadićima korijenja u zemlji za sadnju kućnih biljaka u odnosu na kontrolu bez korijenja. U tlu u kojem su korjenčići bili ostavljeni 11 dana taj učinak nije bio toliko izražen, vjerojatno zbog brze razgradnje fitotoksičnih spojeva u tlu i poništavanja njihovog učinka. Posljednji pokus nije dao očekivane rezultate pošto je klijavost bila veoma slična u kontrolama i u replikama tretiranim ekstraktom lišća pajasena. Uzrok je u usporenom metabolizmu u lišću u jesenskim mjesecima tijekom kojih je vršeno branje lišća.

Iz svega se može zaključiti da pajasen ima vrlo uspješne mehanizme opstanka i potiskivanja ostalih biljaka u blizini što je jedan od razloga za njegovu invazivnost, no potencijalno bi se neki njegovi dijelovi (npr. korijen) mogli koristiti za pripremu prirodnih herbicida pa bi to mogao biti jedan od načina uklanjanja pajasena iz prirodnog okoliša.

Glavne riječi: *Ailanthus altissima* (Mill.) - pajasen, herbicidni učinak

UVOD

Pajasen – *Ailanthus altissima* (Mill.), listopadna drvenasta biljka podrijetlom iz jugoistočne Azije, strana je i invazivna vrsta u Hrvatskoj. Stablo pajasena postiže maksimalnu visinu 25 – 30 m u umjerenom pojasu i 18 – 20 m u (sub-) mediteranskom pojasu. Deblo i grane su glatke, sive kore s bijelim prugama. Listovi su izmjenični, najčešće dugi do 60 cm i neparno perasti s uglavnom 13 – 25 liski. Pajasen sadrži različite vrste nektarija. Svaki list ima 1 – 8 takvih žlijezda. Nektariji izlučuju različite forme šećera sve do listopada, a trajanje proizvodnje nektara i njegov kemijski sastav variraju sezonski i među vrstama pajasena (Kowarik i Säumel, 2007). Biljka je dvodomna, tj. pojedine jedinke nose cvjetove samo jednog spola, muške ili ženske. Pajasen cvjeta tijekom kasnog ljeta. Snažan miris cijele biljke, pogotovo cvjetova, privlači brojne oparašivače – pčele, bumbare i druge kukce. Nakon uspješnog oparašivanja i oplodnje razvijaju se brojni okriljeni plodovi – samare, s jednom sjemenkom. Pajasen proizvodi nevjerovatnu količinu plodova, jedna jedinka može proizvesti do 325 000 plodova tijekom sezone (Flora Hrvatske, 2015). Pri kraju sazrijevanja plodovi opadaju, većina se raznosi vjetrom iako je prijenos moguć i vodom, pticama ili čovjekom. Pajasen se razmnožava i vegetativno pomoću podzemnih podanaka koji se mogu pojaviti iznad tla i na petnaestak metara udaljenosti od matične biljke te adventivnim pupovima (Kowarik i Säumel, 2007).



Pajasen je uveden u Europu i Ameriku u 18. stoljeću iz jugoistočne Azije te je danas jedna od invazivnijih vrsta biljaka u svijetu, osobito raširena u gradovima (DAISY, 2011). Rasprostranjena je u cijeloj Hrvatskoj, a posebno na području primorja (Novak i Kravaršćan, 2011). U Istri je moguće u gradovima, a pogotovo uz prometnice (Slika 1.), uočiti velik broj stabala pajasena. Smatra se invazivnom vrstom zbog brzog rasta, velike sposobnosti reprodukcije i lučenja alelopatskih kemijskih spojeva kojima potiskuje druge vrste. Podnosi širok raspon ekoloških čimbenika, uspijeva na gotovo svim tipovima tla i otporan je na zagađenje što mu pridaje pozitivne hortikulturalne osobine kao što su jednostavan uzgoj, bujni rast, dekorativni izgled i brzo razmnožavanje.

Iako je u našim krajevima definiran kao opasna invazivna vrsta, brojna su područja primjene pajasena. Koristi se kao izvor drvene građe, za proizvodnju različitih drvenih predmeta, ogrjev i celulozu. Imao je veliku važnost u tradicionalnoj kineskoj medicini gdje se koristio za ublažavanje grčeva, protiv parazita, kao narkotik, za liječenje epilepsije, sunčanice, astme (Kowarik i Säumel, 2007). Međutim, svakako treba biti oprezan i odmjeran pri njegovu korištenju jer pajasen može štetno djelovati na ljudsko zdravlje i izazvati dermatitis ili alergijske reakcije (Državni zavod za zaštitu prirode, 2015).

Jedna od osobina koja vjerojatno pridonosi kompetitivnosti pajasena i predstavlja jedno od zanimljivijih potencijalnih područja primjene je otpuštanje herbicidnih spojeva koji oštećuju susjedne vrste biljaka i sprječavaju njihov rast. Ovaj alelopatski učinak pajasena prvi je puta zapazio Mergen (1959.) testirajući vodene ekstrakte pajasena na 46 vrsta drveća. Ustanovio je da ekstrakti nisu imali negativni učinak samo na jednu od testiranih vrsta, i to bijeli jasen (*Fraxinus americana* L.). Osim toga, još su dvije biljne vrste pokazale otpornost prema herbicidnom učinku pajasena: pamuk i mračnjak (Heisey, 1990; Lawrence i sur., 1991; Heisey, 1996; Heisey and Heisey, 2003). Do danas su mnoga istraživanja dokazala herbicidni učinak pajasena na mnoge vrste biljaka iz skupine trava, drveća te različitih poljoprivrednih kultura (Heisey, 1990; Lawrence i sur., 1991; Heisey, 1996; Heisey and Heisey, 2003). Ustanovljeno je da je za toksični učinak u najvećoj mjeri odgovoran ailanton, spoj iz skupine kvazinoida (Heisey, 1996), dok su kasnije izolirani i drugi spojevi: ailantinon, šaparin i ailantinol B (De Feo i sur., 2003). Pretpostavlja se da je glavni mehanizam toksičnosti pajasena otpuštanje herbicida kroz korijen u zemlju gdje dolazi u dodir s biljkama koje ga asimiliraju u tkivo. Ovu pretpostavku podupire činjenica da se najviša koncentracija herbicida nalazi u kori korijena, potom kori stabljike, lišću, drvu te cvatovima (Heisey, 1990). Pokazalo se i da herbicidni učinak tijekom vremena slabi zbog brze razgradivosti ailantona pomoću mikroorganizama iz zemlje.

Pajasen je prisutan i u našem gradu; najviše uz ceste, gradske ulice, čak i u okolišu škole (Slika 2.). Do sada nitko nije ukazao na njegovu potencijalnu štetnost i invazivnost. Stoga je odlučeno dodatno istražiti ovu invazivnu biljku. Proučavajući osobine pajasena ustanovljeno je da se radi o vrlo otpornoj biljci koja može potisnuti brojne domaće vrste, no njegovo uklanjanje je skupo i komplicirano. Smatramo da bi korištenje nekih njegovih dijelova u proizvodnji prirodnih herbicida usmjerilo pažnju na pajasen i potaknulo akcije povezane s kontrolom širenja ili eventualnog uklanjanja biljke.

OBRAZLOŽENJE TEME

Strane vrste su nezavičajne vrste koje prirodno ne obitavaju u određenom ekosustavu, nego su u njega dospjele namjernim ili nenamjernim unošenjem. Ukoliko širenje strane vrste negativno utječe

na bioraznolikost, zdravlje ljudi ili stvara ekonomsku štetu na području na koje je unesena, tada tu vrstu smatramo invazivnom. Globalno gledajući, danas se smatra da invazivne vrste na nekom području, uz izravno uništavanje staništa, predstavljaju najveću opasnost za njegovu biološku raznolikost (Državni zavod za zaštitu prirode, 2015).



Slika 1. Stablo pajasena uz prometnicu



Slika 2. Pajasen iza Srednje škole Mate Balote

Potreba za prirodnim spojevima koji bi se koristili u poljoprivredi sve je veća zbog štetnog djelovanja industrijskih pesticida na okoliš. Prednosti prirodnih spojeva pred industrijskim prvenstveno se odnose na veći stupanj selektivnosti, što znači da su štetni samo za ciljane vrste, i što je još značajnije, prirodni spojevi su biorazgradivi. Pajasen, iako u današnje vrijeme velika prijetnja bioraznolikosti i kvaliteti života u gradovima, mogao bi se ipak pokazati i korisnim kao izvor širokog raspona ljekovitih spojeva te ekološki prihvatljivih herbicida i insekticida.

Cilj ovog istraživanja bio je dokazati da lišće i korijen pajasena negativno utječu na rast ostalih biljaka. Trebamo dokazati herbicidno djelovanje pajasena na testne biljke. U našim pokusima testne biljke bile su lucerna (*Medicago sativa* L.) i pšenica (*Triticum aestivum* L.). Kroz nekoliko testiranja pokušat će se uočiti utjecaj fitotoksina iz tkiva pajasena na klijanje sjemenki te ujedno opisati intenzitet učinka



s obzirom na primijenjene metode. S obzirom na literaturne podatke očekujemo da će klijanje biti usporeno ili spriječeno kod tretiranih sjemenki.

U prvom pokusu pokušat će se utvrditi učinak zemlje sakupljene blizu pajasena na klijavost sjemenki te uspoređujući sa kontrolnim uzorkom zemlje, ustanoviti intenzitet učinka herbicida na pšenicu i lucernu.

U drugom pokusu cilj je ustanoviti stopu otpuštanja toksina iz korijena ostavljanjem korijena u zemlji kroz dva vremenska razdoblja prije sijanja. Ovim pokusom želi se ustanoviti dolazi li do ispuštanja fitotoksina iz korijena pajasena u tlo, koliko traje to otpuštanje i dolazi li nakon nekog vremena do degradacije fitotoksina.

U trećem će se pokusu ustanoviti intenzitet herbicidnog učinka vodenih ekstrakata lišća pajasena s obzirom na duljinu ekstrakcije.

Zavisna varijabla naših pokusa je klijavost sjemenki testnih biljaka.

Nezavisna varijabla naših pokusa su određeni biljni organi pajasena (korijen i list).

Hipoteza pokusa 1: Pajasen ispušta fitotoksične tvari iz korijena u okolno tlo, stoga smatramo da će klijanje sjemenki pšenice i lucerne biti smanjeno ili spriječeno. Pretpostavlja se da će klijavost sjemenki u zemlji koja je uzeta na manjoj udaljenosti od stabla pajasena biti manja od klijavosti sjemenki u zemlji uzetoj na većoj udaljenosti od stabla pajasena.

Hipoteza pokusa 2: Pretpostavlja se da će uzeti uzorci korijenja pajasena pokazati herbicidno djelovanje te da će klijavost testnih biljaka u zemlji s korijenjem pajasena biti smanjena. Također se pretpostavlja da će klijavost sjemenki testnih biljaka biti manja u zemlji u kojoj je korijenje pajasena duže djelovalo.

Hipoteza pokusa 3: Lišće pajasena sadrži topive fitotoksične spojeve, te će ekstrakti lišća smanjiti klijavost testnih biljaka. Pretpostavlja se da će klijavost testnih biljaka biti manja tamo gdje su sjemenke tretirane otopinom u kojoj je lišće duže maceriralo.

MATERIJAL I METODE RADA

Sakupljanje materijala

Lišće pajasena sakupljeno je sa stabala na području grada Poreča u listopadu i studenom te sušeno na suhom i mračnom mjestu u razdoblju od oko mjesec dana.

Korijen pajasena iskopan je u blizini stabla, narezan na komade te izvagan.

Zemlja koja je korištena u prvom pokusu iskopana je oko stabala pajasena na istoj lokaciji.

Testne biljke za utvrđivanje klijavosti

Kao pokusne biljke odabrane su lucerna (*Medicago sativa* L.) i pšenica (*Triticum aestivum* L.). Testne biljke odabrane su na temelju raspoloživosti sjemenja i dokazane dobre klijavosti.



Klijavost je testirana u školskom plasteniku. Za pšenicu je ona iznosila 92.5%, a za lucernu 90% u idealnim uvjetima. U tom testiranju praćena je klijavost još nekih biljaka, ali one nisu pokazale tako dobre rezultate.

Testiranje je podijeljeno na tri pokusa, u prva dva testiran je korijen pajasena, a u trećem lišće. Svi pokusi provedeni su u školskom plasteniku.

Pokus 1

Klijanje sjemenki u tlu sakupljenom blizu stabla pajasena i 15 m od stabla

Pripremljeno je 12 lončića, za svaku testnu biljku po 6 lončića – 3 ponavljanja sa zemljom blizu pajasena i 3 ponavljanja sa zemljom 15m od pajasena. Uzorci tla uzeti su lopatom, stavljeni u lončiće, odneseni u plastenik i u svaki je posijano 30 sjemenki. Nakon 6 dana izbrojano je isključeno sjemenje.

Pokus 2

Klijanje sjemenki u tlu u koje su prethodno izmiješani komadići korijena

Iskopano je korijenje pajasena motikom, očišćeno od zemlje, narezano na manje komade i izvagano.

Pripremljena su 24 lončića sa zemljom (standardna zemlja za sadnju kućnih biljaka), za svaku testnu vrstu 12 te je u svaki lončić (osim za jednu kontrolu za svaku grupu) stavljeno 10 g nasjeckanog korijenja pajasena. Lončići su stavljeni u hladnjak na 4°C kroz 6 i 11 dana radi sprječavanja degradacije toksina. Dva sata prije sijanja sjemenki posude su izvađene iz hladnjaka na sobnu temperaturu. U svaki lončić posijano je 30 sjemenki testnih biljaka. Rezultati su zabilježeni brojanjem isključanih biljaka 6 dana nakon sijanja. Kontrolni uzorci pripremljeni su na isti način bez komadića korijena.

Pokus 3

Tretiranje sjemenki vodenim ekstraktima smrvljenog suhog lišća

Suho lišće pajasena smrvljeno je i podijeljeno u 3 uzorka po 100 g. Svaki je uzorak stavljen u 1L vode u staklene posude te ostavljen na maceraciju (namakanje) 2, 4 i 7 dana. Time su dobivene 3 vrste ekstrakta (1, 2 i 3).

Sjemenke testnih biljaka posađene su u 24 lončića, za svaku vrstu po 12, u svaku po 30 sjemenki, te su podijeljene u 4 grupe za 4 tretmana: tretman ekstraktom 1, 2 i 3 te kontrolom. Svaki uzorak tretiran je s 30 mL ekstrakta lišća pajasena, a kontrola vodom istog volumena. Rezultati su zabilježeni 5 i 7 dana nakon postavljanja pokusa brojanjem isključanih sjemenki testnih biljaka.

Analiza podataka

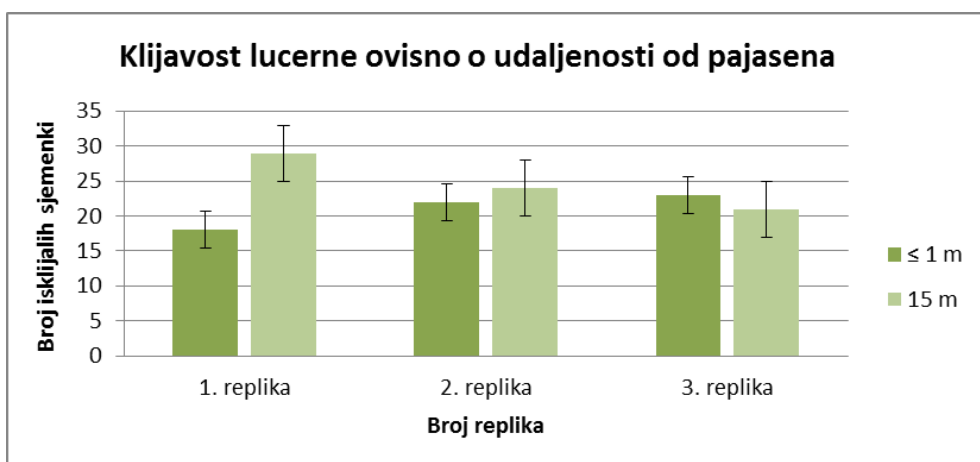
Podaci su sakupljeni brojanjem isključanih sjemenki. Iz rezultata tri ponavljanja izračunat je prosjek sa standardnom devijacijom. Rezultati prvog i drugog pokusa prikazani su na grafovima napravljenim u Microsoft Office Excelu 2007. Za teći pokus podaci su prikazani u tablicama za vizualni prikaz rezultata. Značajnost razlika rezultata izračunata je One Way Anova jednostavnim T testom za treći pokus. Značajnost je određena na razini stupnja pogreške od $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$.

REZULTATI

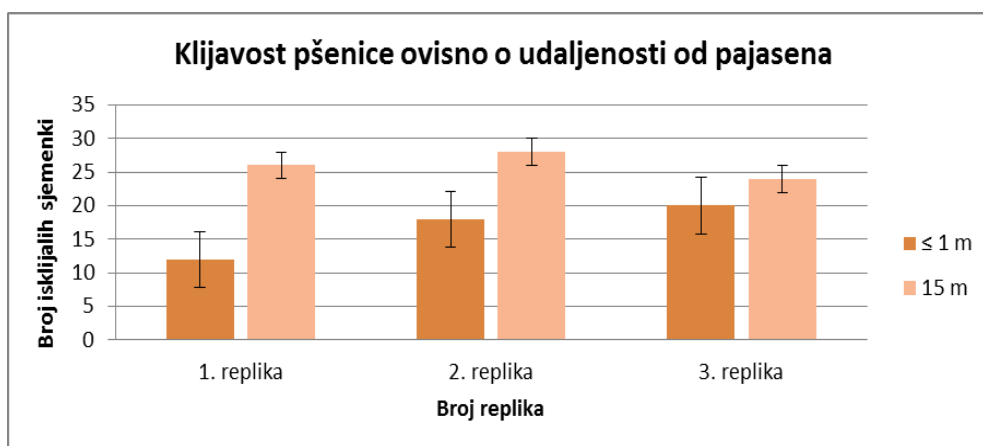
Pokus 1

Klijanje sjemenki u tlu sakupljenom blizu stabla pajasena i 15 m od stabla pajasena

Rezultati prvog pokusa prikazani su na Slici 3. i 4. Sjemenke smo brojili nakon 6 dana klijanja. U svim skupinama podataka klijavost je bila niža u zemlji sakupljenoj uz pajasen, a značajna razlika je dobivena samo za pšenicu. Rezultati su obrađeni u Microsoft Office Excelu 2007. Grafički prikaz srednje vrijednosti klijavosti prikazan je na Slici 3. i 4. Grafički je prikazana klijavost (izražena u broju iskljanih biljaka) lucerne i pšenice u uzorku tla u blizini stabla pajasena i tla 15 m dalje od stabla pajasena.



Slika 3. Utjecaj otpuštanja fitotoksina iz korijena u tlo na klijavost lucerne ovisno o udaljenosti, 6 dana nakon sisanja



Slika 4. Utjecaj otpuštanja fitotoksina iz korijena u tlo na klijavost pšenice ovisno o udaljenosti, 6 dana nakon sisanja

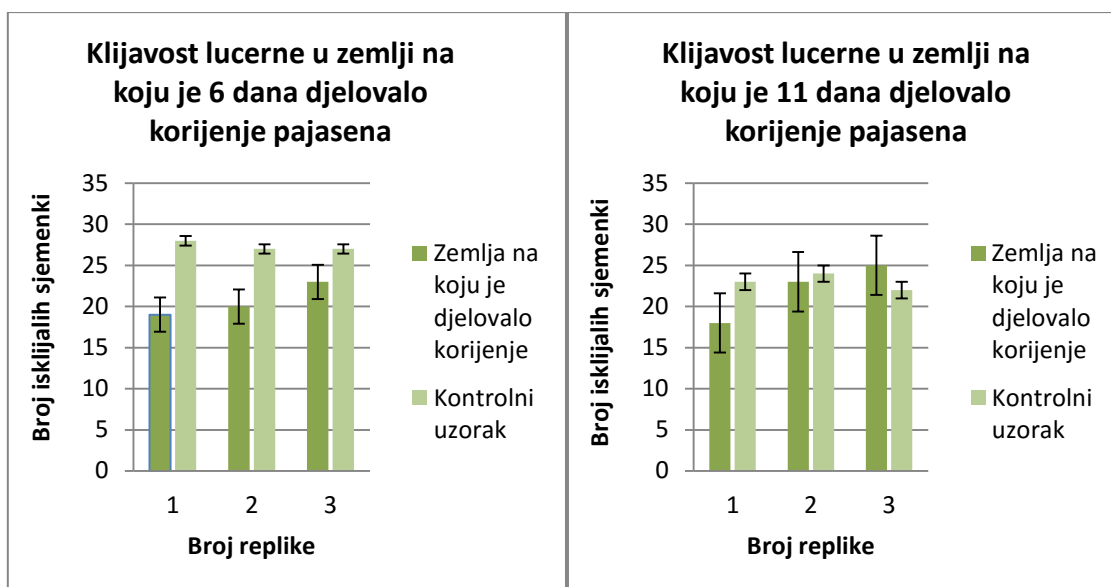


Slika 5. Klijavost pšenice u zemlji blizu pajasena i 15 m dalje od pajasena

Pokus 2

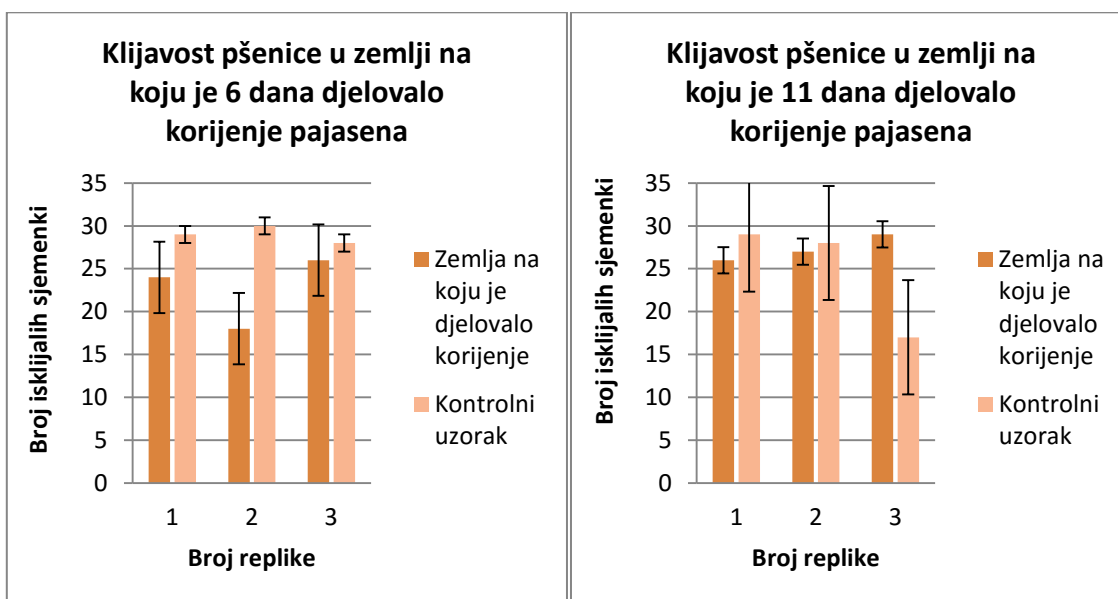
Klijanje sjemenki u tlu u kojem su prethodno izmiješani komadići korijena

Testiranje je provedeno u tlu u kojem su korjenčići ostavljeni 6 i 11 dana. Brojanje iskljajanih sjemenki obavljeno je 6 dana nakon sijanja za oba tretmana, a rezultati su prikazani na Slikama 6, 7, 8 i 9.



Slike 6. i 7. Klijavost (izražena u broju iskljajanih biljaka) lucerne u tlu u kojem su 6 i 11 dana ostavljeni korjenčići pajasena.

Podaci su obrađeni u Microsoft Office Excelu 2007.



Slike 8. i 9. Klijavost (izražena u broju iskljanih biljaka) pšenice u tlu u kojem su 6 i 11 dana ostavljeni korjenčići pajasena. Podaci su obrađeni u Microsoft Office Excelu 2007.



Slika 10. Klijavost sjemenki lucerne nakon 6 dana djelovanja korijenja pajasena na zemlju (ispod) i kontrolni uzorci (iznad)

Pokus 3

Tretiranje sjemenki vodenim ekstraktima smrvljenog suhog lišća

Rezultati su prikazani u Tablici 1. i Tablici 2. Ekstrakti (1, 2 i 3) razlikuju se po duljini maceracije (namakanja) suhog lišća (2, 4 i 7 dana). Podaci su obrađeni One Way Anova jednostavnim T testom na razini značajnosti $p \leq 0.05$ i $p \leq 0.01$.

Tablica 1. Klijavost (izražena u broju iskljanih biljaka) lucerne i pšenice tretiranih različitim ekstraktima lišća pajasena nakon 5 dana klijanja

Klijavost nakon 5 dana							
Lucerna	sig. 5% i 1%						
Ekstrakti	1. replika	2. replika	3. replika	Kontrola	Prosjeak	St.dev.	
1 (2 dana)	0	10	11	7	7	6,083	A
2 (4 dana)	20	22	22	19	21	1,155	A
3 (7 dana)	23	2	26	22	17	13,077	A
Pšenica	sig. 5% i 1%						
Ekstrakti	1. replika	2. replika	3. replika	Kontrola	Prosjeak	St.dev.	
1 (2 dana)	2	4	21	22	9	10,440	A
2 (4 dana)	21	20	22	11	21	1,000	A
3 (7 dana)	23	25	25	20	24	1,155	A

A – nema statistički značajne razlike

Tablica 2. Klijavost (izražena u broju iskljanih biljaka) lucerne i pšenice tretiranih različitim ekstraktima lišća pajasena nakon 7 dana klijanja

Klijavost nakon 7 dana							
Lucerna	sig.5% i 1%						
Ekstrakti	1. replika	2. replika	3. replika	Kontrola	Prosjeak	St.dev.	
1 (2 dana)	4	14	19	12	12	7,638	A
2 (4 dana)	23	24	25	24	24	1,000	A
3 (7 dana)	10	26	26	23	21	9,238	A
Pšenica	sig.5% i 1%						
Ekstrakti	1. replika	2. replika	3. replika	Kontrola	Prosjeak	St.dev.	
1 (2 dana)	16	22	26	26	21	5,033	A
2 (4 dana)	24	28	29	28	27	2,646	A
3 (7 dana)	27	29	27	27	28	1,155	A

A – nema statistički značajne razlike



Slika 11. Ekstrakti (1, 2 i 3) razlikuju se po duljini maceracije (namakanja) suhog lišća (2, 4 i 7 dana)



RASPRAVA

Pokus 1

Klijanje sjemenki u tlu sakupljenom blizu stabla pajasena, te 15 m od stabla pajasena

Kod testnih biljaka (lucerne i pšenice) klijavost je bila niža u zemlji uzetoj uz pajasen, značajnija je razlika dobivena za pšenicu. Isti učinak potvrđen je i od strane autora Lawrence i sur., 1991. Rezultati su potvrdili hipotezu da pajasen ispušta fitotoksične tvari iz korijena u okolno tlo koje smanjuju klijavost jer su sve testne biljke u tlu uzetom blizu pajasena imale slabiju klijavost od testnih biljaka u tlu uzetom 15 m od pajasena. Korijen pajasena ispušta fitotoksične tvari u tlo i time stvara kompetitivnu prednost jer eliminira konkurenciju u svojem staništu. Upravo ta karakteristika pridonosi njegovoj invazivnosti.

Pokus 2

Klijanje sjemenki u tlu u kojem su prethodno izmiješani komadići korijena pajasena

Kod testnih biljaka (lucerne i pšenice) veća je klijavost u kontroli u usporedbi sa sjemenkama posijanim u zemlji u kojoj su komadići korijenja pajasena ostavljeni 6 dana. Isti trend se nije nastavio i u tlu u kojem su korjenčići ostavljeni 11 dana. Klijavost testnih biljaka u zemlji na koju je 11 dana djelovalo korijenje povećala se u odnosu na klijavost u zemlji gdje je korijenje djelovalo 6 dana. Iz grafa se može iščitati da je u trećoj replici klijavost testnih biljaka bila čak veća od klijavosti u kontrolnom uzorku. Pretpostavlja se da je zbog produženog djelovanja korjenčića u tlu (5 dana više) došlo do degradacije fitotoksina bakterijama iz tla te je nestao fitotoksični učinak i nije znatno smanjeno klijanje u odnosu na kontrolu. Ovaj učinak potvrdio je i Heisey 1996. Rezultati su djelomično potvrdili hipotezu.

Pokus 3

Tretiranje sjemenki vodenim ekstraktima smravljenog suhog lišća

Očekivalo se da ekstrakti lišća pajasena negativno utječu na klijavost biljaka i to u ovisnosti o duljini maceriranja (namakanja) odnosno koncentraciji fitotoksina u maceratu. Usporedbom između tretiranih lončića i kontrole, kao i između različitih ekstrakata, nema statistički značajnih razlika. Nije uočena nikakva pravilnost ili trend u tumačenju rezultata. Jedan od razloga mogao bi biti i sezonska varijabilnost toksičnosti. Još u istraživanju autora Voigt i Mergen (1962) uočena je razlika u toksičnosti ekstrakata u svježih i sušenih listova s manje razvijenim inhibitorskim efektima u lišću iz listopada u usporedbi s mlađim lišćem. Listovi za ovo istraživanje sakupljani su tijekom mjeseca listopada i studenog te je moguće da je tada u listovima bilo manje fitotoksičnih spojeva, stoga je i fitotoksični učinak na klijavost biljaka bio slab. Rezultati nisu potvrdili hipotezu.

ZAKLJUČCI

Istraživanjem su djelomično potvrđene hipoteze postavljene na početku istraživanja. Prva dva pokusa potvrdila su hipotezu da pajasen ispušta fitotoksične tvari iz korijena u okolno tlo. Ta je činjenica potvrđena za tlo u prirodnim uvjetima (Slika 3. i Slika 4.), kao i u kontroliranim uvjetima kada su korjenčići iskopani i ponovno stavljeni u neutralno tlo (Slike 6.–9.). Također je potvrđeno da nakon 11 dana dolazi do degradacije fitotoksina što je pozitivna osobina u slučaju primjene pajasena kao herbicida u poljoprivredi. Na taj način se, naime, dugoročno ne zagađuje okoliš, za razliku od mnogih sintetskih herbicida koji dugo ostaju u tlu, prelaze u podzemne vode i time zagađuju okoliš.



Druga hipoteza da lišće pajasena sadrži topive fitotoksične spojeve koji mogu smanjiti klijavost nije dokazana (Tablica 1. i Tablica 2.). Razlozi se vjerojatno nalaze u sezonskoj varijabilnosti koncentracije fitotoksina u lišću pajasena. Svi potrebni materijali prikupljeni su u mjesecu listopadu i studenom kada je metabolizam biljke usporen. Zbog toga smatramo da bi pokus o herbicidnom djelovanju listova na klijavost biljaka trebalo ponoviti u drugom periodu, odnosno u rano ljeto kad se očekuje viša koncentracija fitotoksina odnosno jači herbicidni učinak lišća pajasena.

Iz svega navedenog može se zaključiti:

- korijen pajasena ispušta fitotoksične spojeve koji djeluju herbicidno na klijavost biljaka
- nije potvrđeno da lišće pajasena u mjesecu listopadu i studenom ima fitotoksični učinak
- zbog svog herbicidnog djelovanja pajasen ima uspješan mehanizam opstanka i može se s pravom tretirati kao invazivna biljka
- pajasen ispušta fitotoksične spojeve i tako utječe na smanjenje bioraznolikosti u prirodi
- neki biljni organi (korijen) pajasena mogli bi se koristiti za pripremu prirodnog herbicida u poljoprivredi.

LITERATURA

- Anonymus. SpeciesFactsheet: *Ailanthus altissima*. DeliveringAlienInvasiveSpeciesInventories for Europe (DAISIE).
URL: <http://www.europe-aliens.org/speciesFactsheet.do?speciesId=16970>
Pristupljeno: 21.02.2015.
- De Feo V., De Martino L., Quaranta E., Piza C. 2003. Isolation of phytotoxic compounds from tree-of-heaven (*Ailanthus altissima* Swingle). *J Agric Food Chem* 51(5):1177-1180.
- Državni Zavod za Zaštitu Prirode. Što su strane invazivne vrste. Invazivne vrste u Hrvatskoj. URL: http://www.invazivnevrste.hr/?page_id=127. Pristupljeno: 01.03.2015.
- Heisey R.M. 1990. Allelopathic and herbicidal effects of extracts from tree of heaven (*Ailanthus altissima*). *Am J Bot* 77 (5):662-670.
- Heisey R.M. 1996. Identification of an allelopathic compound from *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae) and characterization of its herbicidal activity. *Am J Bot* 83(2):192-200.
- Heisey R.M. i Heisey, T.K. 2003. Herbicidal effects under field conditions of *Ailanthus altissima* bark extract, which contains ailanthone. *Plant and Soil* 256:85-99.
- Kowarik, I. i Säumel, I. 2007. Biological flora of Central Europe: *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 8(4):207-237.
- Lawrence, J. G., Colwell, A., Sexton, O. J. 1991. The Ecological Impact of Allelopathy in *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae). *Am J Bot* 78(7):948-958.
- Mergen F. 1959. A toxic principle in the leaves of *Ailanthus*. *Bot. Gaz.* 121:32-36.
- Nikolić T., Mitić B., Boršić I. 2015. Flora hrvatske: invazivne biljke. Alfa, Zagreb.
- Novak N. i Kravarščan M. 2011. Invazivne strane vrste u Republici Hrvatskoj. Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo, Zagreb.
- Voigt, G. K. i Mergen, F. 1962. Seasonal variation in toxicity of *Ailanthus* leaves to pine seedlings. *Bot. Gaz.* 123:262-265.

MORFOLOGIJA LIŠĆA I RAST IZBOJAKA MUŠKIH I ŽENSKIH BILJAKA BIJELE IMELE S RAZLIČITIH DOMAĆINA U PARKU MAKSIMIR

Matea Pavičić, 3. razred

Nikola Novosel, 3. razred

Nadbiskupska klasična gimnazija s pravom javnosti, Zagreb

Mentor: Karmela Brčić Đapić

SAŽETAK

Neistraženost bijele imele na području parka Maksimir kao i zanimljiv način života bijele imele potakli su nas na ovo istraživanje. Prije svega željeli smo utvrditi na kojim vrstama drveća parazitira bijela imela u parku Maksimir, zanimalo nas je postoje li razlike u morfologiji lišća muške i ženske bijele imele budući da o tome nema dostupnih literaturnih podataka. S obzirom na to da je imela dvodomna biljka odlučili smo utvrditi postoji li razlika u rastu izbojaka u vremenskom periodu od tri godine (2012. – 2014. godine). Ideja je bila istražiti povezanost bijele imele s klimatskim čimbenicima gdje smo se odlučili pobliže istražiti povezanost rasta dužine izbojaka bijele imele u pojedinim godinama i ukupne godišnje količine oborina te utvrditi postoji li povezanost u rastu dužine izbojaka bijele imele u pojedinim godinama i broja sunčanih sati u tim godinama. Nakon što je s različitih biljaka domaćina sakupljen biljni materijal uzorci su označeni, izrađen je herbarij te je obavljena determinacija domaćina. Uslijedilo je mjerenje različitih parametara kod listova kao i mjerenje izbojaka u pojedinim godinama. Općenito, istraživanjem je potvrđeno da dužina lista muških i ženskih biljaka varira od 2,4 do 9,1 cm, a širina lista od 0,4 do 2,5 cm. Ženske biljke prosječno su godišnje rasle 7,2 cm, a muške 5,6 cm odnosno ženske biljke su u prosjeku rasle 1,6 cm više nego muške biljke. Kroz dobivene rezultate potvrdili smo kako bijela imela u parku Maksimir parazitira na različitim vrstama drveća kao i to da se muška i ženska imela razlikuju prema morfologiji lišća. Naša pretpostavka da ženska imela prosječno manje naraste odnosno ima kraće izbojke od muške imele jer dio energije troši na proizvodnju plodova, pokazala se pogrešnom budući da su izbojci ženske imele bili značajno duži od izbojaka muške imele kroz sve tri godine. Utvrdili smo da ukupna godišnja količina oborina ne utječe izravno na rast bijele imele. Povezanost rasta bijele imele i količine oborina u pojedinim godinama (2012., 2013. i 2014.) posredna je i posljedica je međuovisnosti količine oborina i broja sunčanih sati. Dužina izbojaka bijele imele u čvrstoj je pozitivnoj korelaciji s brojem sunčanih sati za istraživano razdoblje od 2012. do 2014. godine, što potvrđuje da je bijela imela izrazito heliofilna vrsta.

Ključne riječi: *količina sunčanih sati, količina oborina, dvodomna biljka, parazitska biljka, heliofilna vrsta*

UVOD

Bijela imela (*Viscum album L.*) je zimzelena vrsta iz porodice Viscaceae. Poluparazitska je biljka koja u različitom intezitetu dolazi na bijelogoričnim i crnogoričnim vrstama drveća. Sadrži klorofil i sama proizvodi organske tvari putem fotosinteze, ali je u pogledu opskrbljivanja vodom i mineralnim tvarima u potpunosti ovisna o domaćinu na kojem se nalazi. Dvodomna je, kuglasta biljka koja može narasti do 1 metar veličine. Razgranjenje je viličasto, a izbojci se u koljencima lako lome. Lišće je jednostavno, nasuprotno, obrnuto jajoliko, cijeloga ruba, bez peteljki. Cvjetovi su jednogospolni, sitni. Plod je okrugla, bijela, iznutra jako ljepljiva boba koja sazrijeva zimi. Za klijanje sjemenke je, za razliku od većine ostalih biljaka, potrebna svjetlost. Pri klijanju razvije se posebni organ za pričvršćivanje biljke za granu domaćina. Zatim se razvije sisaljka koja izlučuje enzime koji rastvaraju stanice kore i dolazi do prodiranja u tkivo domaćina (Barney i sur., 1998). Sisaljka imela iz provodnog sustava domaćina uzima vodu i mineralne tvari, dok organske tvari sama asimilira. Bijela imela je rasprostranjena u Europi, sjevernoj Africi i Aziji. Zavičajna je vrsta u Hrvatskoj (Domac, 2002). Imele su specijalizirane i dolaze samo na određenim vrstama domaćinima. Barney i sur. (1998) navode da bijela imela dolazi na najvećem broju različitih domaćina od svih vrsta imela, odnosno da dolazi na

452 vrste iz 96 rodova i 44 porodice. Prema Idžojtić (2003) bijela imela u Hrvatskoj dolazi na preko 40 različitih domaćina. Budući da sjeme imele neće proklijati ni u zemlji niti u vodi, za razmnožavanje su prije svega zadužene ptice koje hraneći se bijelim bobama progutaju tvrdo, neprobavljivo sjeme. Ptice, zatim, izmetom izbacuju sjemenke koje se pričvršćuju za grane domaćina i šire zarazu. Međutim, stabla na kojima se imela već nalazi mogu se zaraziti i plodovima koji otpadaju s postojećih grmova imele te se zalijepe i počnu klijati na nekoj od nižih grana istog stabla.



Slika 1. Muška bijela imela

Štetnost imele je višestruka. Naime, svojom prisutnošću ona umanjuje vitalnost zaraženog stabla. Prekomjernom potrošnjom vode i mineralnih tvari te zasjenom predisponira biljku domaćina za napad drugih bolesti i štetnika, stvarajući tako uvjete koji vode prijevremenom odumiranju domaćina (Diminić i sur., 2011). Pri povoljnim životnim uvjetima imela predstavlja jedan od sastavnih dijelova biocenoze. Zanimljiva je biljka koja se najbolje uočava zimi na listopadnim domaćinima jer izgleda kao zelena kugla u krošnji bez lišća. Važna je ljekovita biljka jer se pripravci od davnina koriste u medicini za liječenje raznih bolesti (Schafner i sur., 1999).

Park Maksimir najveći je i najpoznatiji zagrebački gradski park. Osnivač parka je zagrebački biskup Maksimilijan Vrhovac, po kome je park dobio ime Maksimir. Izvorno nastao na rubnim dijelovima Zagreba krajem 18. i u prvoj polovici 19. stoljeća, danas je u cijelosti okružen gradskim naseljima (Mudrinjak, 1974). I u takvom okruženju, park Maksimir predstavlja mjesto gdje su utočište pronašle mnoge biljne i životinjske vrste. Zbog očuvanih stoljetnih hrastovih šuma njegova vrijednost za zaštitu ugroženih vrsta je velika. Tako je u parku Maksimir zabilježeno više od sto vrsta ptica, od kojih se značajem ističu ptice dupljašice. Osim šuma, u parku Maksimir možemo naći livade, jezera i potoke, koji također predstavljaju važna staništa raznim biljkama i životinjama i time doprinose njegovoj biološkoj raznolikosti (Kiš, 1998).

OBRAZLOŽENJE TEME

Bijela imela sastavni je dio naših biocenoza. Zanimljiva je vrsta zbog načina svoga života. Iako je na području njene rasprostranjenosti zabilježena na različitim domaćinima, veliki je broj biljaka na kojima se ne razvija. Ova vrsta nije dovoljno poznata ni istraжена. Kao poluparazitska biljka može imati i negativan utjecaj, naročito ako se proširi u velikom broju na pojedinim jedinkama domaćina. Taj problem naročito dolazi do izražaja u nepovoljnim okolišnim uvjetima, npr. tijekom sušnih godina.



Pozitivna su njena ljekovita svojstva. Budući da je dvodomna biljka, potrebno je istražiti moguće postojanje razlika biljaka različitog spola. Također je zanimljivo utvrditi povezanost brzine rasta imele i pojedinih ekoloških čimbenika. Budući da je uzimanje uzoraka za istraživanje trebalo ograničiti na lokalitet na području Zagreba, izabran je park Maksimir, kao velika zelena površina, s različitih aspekata značajna za Grad Zagreb, ali i za Hrvatsku. Uzimajući u obzir važnost parka Maksimir i činjenicu da bijela imela na području parka nije istraživana, odnosno da ne postoje podatci o vrstama na kojima bijela imela parazitira, prvi cilj ovoga rada bio je utvrditi na kojim vrstama biljaka taj poluparazit dolazi u parku Maksimir. Imela je dvodomna vrsta pa postoje biljke samo s muškim ili samo sa ženskim cvjetovima. S obzirom na to saznanje drugi cilj ovoga rada bio je utvrditi postoje li razlike u morfologiji lišća muške i ženske bijele imele, o čemu nema dostupnih literaturnih podataka. Budući da ženske biljke bijele imele osim na rast izbojaka energiju troše i na proizvodnju plodova, treći cilj bio je utvrditi postoji li razlika u rastu (dužini izbojaka) muške i ženske bijele imele u razdoblju od 2012. do 2014. godine. Meteorološka postaja nalazi se u neposrednoj blizini parka Maksimir pa su dostupni vrlo točni klimatski podatci. Budući da imela od biljke domaćina uzima vodu, četvrti cilj bio je utvrditi postoji li povezanost rasta (dužine izbojaka) imele u pojedinim godinama i ukupne godišnje količine oborina. Bijela imela je izraziti heliofit pa je s obzirom na to svojstvo peti cilj bio utvrditi postoji li povezanost u rastu (dužini izbojaka) imele u pojedinim godinama i broja sunčanih sati u tim godinama.

Prije istraživanja postavljene su sljedeće pretpostavke: 1. Bijela imela u parku Maksimir parazitira na različitim vrstama drveća. 2. Muška i ženska bijela imela razlikuju se prema morfologiji lišća. 3. Ženska imela prosječno manje naraste, odnosno ima kraće izbojke od muške imele jer dio energije troši na proizvodnju plodova. 4. Postoji povezanost rasta (dužine izbojaka) bijele imele i količine oborina u pojedinim godinama (2012., 2013. i 2014.). 5. Postoji povezanost rasta (dužine izbojaka) bijele imele i broja sunčanih sati u pojedinim godinama (2012., 2013. i 2014.).

Očekivani doprinos rezultata ovoga istraživanja su nove spoznaje o flori Maksimira, kao najvećeg i najznačajnijeg zagrebačkog parka. Također, rasvijetlit će se pitanje moguće spolne određenosti morfologije lišća, kao i mogućeg utjecaja plodonošenja na manji rast izbojaka ženskih biljaka bijele imele u odnosu na muške biljke, koje ne moraju trošiti hranu na proizvodnju plodova. Iako na rast (dužinu izbojaka) utječu brojni čimbenici, genetički i okolišni, utvrdit će se postoji li povezanost rasta imele i godišnje količine oborina, kao i broja sunčanih sati.

MATERIJAL I METODE RADA

Područje istraživanja

Istraživanje je provedeno u zagrebačkom parku Maksimir. To je područje izabrano zbog svoje prirodne, kulturne i povijesne važnosti za Grad Zagreb, a kao jedan od prvih javnih gradskih parkova u ovome dijelu Europe ima važnost i za cijelu Hrvatsku. U parku osim zavičajnih biljaka rastu i brojne sađene vrste pa je zbog biljne raznolikosti i velikog broja potencijalnih domaćina bio pogodan za istraživanje bijele imele. Podatci za prirodne značajke parka Maksimir navedeni su prema stranicama Javne ustanove „Maksimir“ (Park-Maksimir, 2015) i Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ, 2015).



Zemljopisni položaj i reljef

Zemljopisno park Maksimir zauzima krajnje južne obronke Medvednice u zoni prijelaza u savsku dolinu, odnosno sjeveroistočni dio Zagreba. Omeđen je Maksimirskom cestom, Bukovačkom cestom, potokom Štefanovec, Vrhovčevim vijencem, Obojom, Prilesjem, potokom Bliznec i Svetošimunskom cestom. Prema topografiji terena Maksimir se može podijeliti na dvije cjeline, sjevernu i južnu. Sjevernu karakteriziraju veća nadmorska visina i veće amplitude visinskih razlika, odnosno veće promjene razina terena dok je južna uglavnom ravan teren, čiju slikovitu pozadinu čine obronci sjeverne cjeline. Nadmorska visina kreće se u rasponu od oko 120 do 167 metara.

Klima

Područje parka Maksimir ima umjerenu kontinentalnu klimu modificiranu maritimnim utjecajem sa Sredozemlja. Prema Köppenovoj klasifikaciji klime, koja uvažava bitne odlike srednjeg godišnjeg hoda temperature zraka i oborine, park Maksimir ima umjereno toplu kišnu klimu sljedećih obilježja: a) temperatura najhladnijeg mjeseca viša je od -3°C i niža od 18°C , b) ljeta su relativno svježija (srednja mjesečna temperatura najtoplijeg mjeseca je veća od 22°C), c) raspored oborina relativno je ujednačen tijekom cijele godine s tim da u toplom dijelu godine ima nešto više oborina, d) srednja godišnja temperatura iznosi oko 11°C , srednja temperatura zime oko 1°C , proljeća 11°C , ljeta 20°C i jeseni 11°C , e) srednji maksimum temperature iznosi oko 35°C , a minimum oko -16°C (apsolutni minimum može pasti ispod -30°C), f) temperatura najtoplijeg mjeseca iznosi oko 21°C , a najhladnijeg oko 0°C .

Srednje mjesečne količine oborina imaju hod karakterističan za kontinentalni oborinski režim. Godišnje oborine iznose oko 870 mm (zima 21 %, proljeće 22 %, ljeto 30 % i jesen 27 %). Maksimalne količine oborina su u lipnju, u većini slučajeva u obliku pljuskova praćenih jakim vjetrom. Minimum mjesečnih oborina javlja se u siječnju i veljači. Razdoblje mogućeg snijega traje otprilike 136 dana.

Glavni smjerovi vjetrova su sjever i sjeveroistok. Proljeće, posebno travanj, najvjetrovitije je doba godine.

Vegetacija

Park Maksimir obuhvaća granično područje južnih obronaka Medvednice i dolinske zaravni Save, pa su u njemu zastupljene šumske zajednice koje rastu na velikim površinama u okolnim brdskim i nizinskim predjelima sjeverne Hrvatske. U donjem, južnom dijelu parka dominantnu ulogu ima hrast lužnjak i to u sklopu šuma s običnim grabom. Hrast lužnjak se djelomično prostire i po dolinama među brežuljcima sjevernog dijela parka. U šumama hrasta lužnjaka nalaze se crna joha i bijela vrba, a pomiješani su još bijeli jasen, poljski brijest, bijela topola i sitnolisna lipa. U najvišim dijelovima parka Maksimir prostire se zajednica hrasta kitnjaka i kestena, dok se na prijelazu zajednica lužnjaka i kitnjaka prostiru skupine hrasta lužnjaka, cera i kitnjaka. Uz obični grab rastu još sremza, lijeska i drugo drveće. Sve te vrste, uključivši i bukvu na višim položajima te mnoge druge vrste drveća i grmlja pridonose izuzetnoj raznolikosti maksimirskih šuma. Svoj značaj bioraznolikosti daju i mnoge vrste prizemnog raslinja u šumama, zatim travnjačka te močvarna vegetacija. Mnoge među njima su i zakonom zaštićene i ugrožene vrste. Travnjačka vegetacija zauzima male površine u istočnom dijelu pokraj fakultetskog Majura, a u južnom se dijelu prostiru, u širem ili užem pojasu, između jezera od istoka prema zapadu. U zamočvarenim dijelovima parka Maksimir pojavljuju se često razne vrste



šaševa i sitova te grupe johe i vrba. U parku Maksimir je, u vrijeme osnivanja, posađeno više od tristo vrsta raznog bilja, od kojih neke više nisu prisutne.

Metode rada

Terenski dio istraživanja proveden je tijekom rujna i listopada 2014. godine. Na cijelom području parka Maksimir promatranjem su uočene i u terensku bilježnicu opisno unesene biljke domaćini na kojima se nalazila bijela imela. S različitih biljaka domaćina sakupljen je biljni materijal. Ubrane su grančice s listovima te plodovi, ako su bili prisutni. Uzorci su označeni rednim brojevima, prema redoslijedu kako su nađeni prilikom terenskog rada i uloženi u novinski papir. Od ubranih uzoraka izrađen je herbarij. Determinacija je rađena usporedbom herbarijskih listova i plodova biljke domaćina s literaturnim podatcima (slikama i tekстом). Korištena je literatura: Domac (2002), Godet (2000), Šilić (1973, 1990), Nikolić (2015).

Sa svih vrsta domaćina, uz pomoć teleskopskih škara, ubrane su po jedna odrasla muška i jedna odrasla ženska biljka bijele imele. Muške biljke moglo se prepoznati jer imaju žute pupove cvjetova za sljedeće proljeće, a ženske biljke imaju obilje bijelih plodova. Sakupljene biljke su odvojene i označene brojevima prema pripadajućoj biljci domaćinu i prema spolu.

Sa svake ubrane imele nasumično je odabrano po 20 ovogodišnjih listova, koji su nalijepljeni na papir i obrojčani. Za svaki list izmjerena je dužina lista (D), širina lista ($\check{S}$) i udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista (DX). Iz mjerenih podataka izračunata su dva omjera koji su važni za opis oblika lista: 1) omjer širine i dužine lista ($\check{S}/D$), iz kojega se vidi je li list okruglast ili duguljast i 2) omjer udaljenosti od osnove lista do točke najveće širine lista i dužine lista (DX/D), iz kojega se vidi je li list najširi u donjem dijelu, u sredini ili u gornjem dijelu.

Osim toga, na svakoj prikupljenoj imeli izmjerena je dužina po 20 izbojaka (DII) za tri zadnje godine, odnosno dužina izbojaka koji su rasli tijekom 2012., 2013. i 2014. godine. Izbojci iz pojedinih godina jasno su razgraničeni i lako se lome na mjestima razgraničenja pa je svaki izbojak otkinut i zatim ravnalom izmjeren.

Podatci su statistički obrađeni pomoću računalnog programa MS Office Excel (2007). Izračunati su: aritmetička sredina ($\bar{x}$), standardna devijacija (sd) i koeficijent varijabilnosti (CV). Također su prikazane minimalne i maksimalne vrijednosti. Za utvrđivanje signifikantnosti razlika mjerenih lisnih značajki muških i ženskih biljaka, kao i za utvrđivanje razlika u dužini izbojaka muških i ženskih biljaka u pojedinim godinama, korišten je Mann-Whitney u-test. Za utvrđivanje povezanosti rasta (dužine izbojaka) bijele imele i ukupne količine oborina, odnosno ukupnog broja sunčanih sati u pojedinim godinama korištena je korelacijska analiza. Dobiveni rezultati su osim tekstualno, zbog preglednosti, prikazani grafički ili tablično. Klimatski podatci o godišnjoj količini oborina i broju sunčanih dana za 2012., 2013. i 2014. godinu preuzeti su od Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ, 2015).



REZULTATI

Domaćini bijele imele

Terenskim istraživanjem utvrđeno je da bijela imela u parku Maksimir dolazi na devet različitih domaćina. To su: srebrnolisni javor (*Acer saccharinum* L.), jasen (*Fraxinus* spp.), gorski javor (*Acer pseudoplatanus* L.), topola (*Populus* spp.), sitnolisna lipa (*Tilia cordata* Mill.), breza (*Betula pendula* Roth), sremza (*Prunus padus* L.), bagrem (*Robinia pseudoacacia* L.) i klen (*Acer campestre* L.). Svi su navedeni domaćini listopadno drveće. Za jasen i topolu utvrđen je samo rod, a nije točno utvrđena pripadnost vrsti. Najviše, tri vrste, pripadaju rodu javora (*Acer*), porodici Aceraceae. Sve ostale vrste su iz zasebnih rodova i porodica (Nikolić, 2015): jaseni (*Fraxinus*) - porodica Oleaceae, topole (*Populus*) - porodica Salicaceae, lipe (*Tilia*) - porodica Tiliaceae, breze (*Betula*) - porodica Betulaceae, šljive (*Prunus*) - porodica Rosaceae, bagremi (*Robinia*) - porodica Fabaceae. Dvije od navedenih vrsta su sjevernoameričke: srebrnolisni javor i bagrem, a ostalo su zavičajne vrste u Hrvatskoj. Za topolu i jasen nije bilo moguće utvrditi porijeklo, jer nije točno određena vrsta.

Morfologija lista bijele imele

Rezultati deskriptivne statističke analize za tri mjerene i dvije izračunate značajke lista, kao i za dužinu izbojaka u 2012., 2013. i 2014. godini prikazani su u tablici 1. To su podatci na razini vrste, odnosno za muške i ženske biljke zajedno.

Prosječna dužina lista (D) bijele imele u parku Maksimir iznosi 5,56 cm, širina lista (Š) 1,39 cm, a udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista (DX) 3,20 cm. Prosječan omjer širine i dužine lista (Š/D) iznosi 0,25 cm, a prosječan omjer udaljenosti od osnove lista do točke najveće širine lista i dužine lista (DX/D) 0,57 cm. Najmanja izmjerena dužina lista bila je 2,4 cm, najmanja širina lista 0,4 cm, a najmanja udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista 1,3 cm. Najveća izmjerena dužina lista iznosi 9,1 cm, najveća širina lista 2,5 cm, a najveća udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista 5,6 cm. Koeficijenti varijabilnosti (CV) bili su između 20,8 i 24,1 % za sve značajke, osim za omjer DX/D, koji je iznosio 9,21 %.

Tablica 1. Statistički parametri za morfološke značajke lišća i izbojaka bijele imele

Parametri	D (cm)	Š (cm)	DX (cm)	Š/D	DX/D	DII (cm)		
						2012.	2013.	2014.
$\bar{x}$	5,56	1,39	3,20	0,25	0,57	6,82	6,64	5,67
sd	1,16	0,34	0,75	0,06	0,05	2,09	2,27	1,95
CV	20,77	24,10	23,42	22,62	9,21	30,59	34,21	34,44
min.	2,4	0,4	1,3	0,13	0,41	1,9	1,9	1,5
max.	9,1	2,5	5,6	0,45	0,78	12,2	13,8	12,3

Rezultati deskriptivne statističke analize za tri mjerene i dvije izračunate značajke lista, kao i za dužinu izbojaka u 2012., 2013. i 2014. godini, posebno za muške i ženske biljke bijele imele prikazani su u tablici 2. Prosječna dužina lista za muške biljke bijele imele iznosi 5,47 cm, širina lista 1,49 cm, a udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista 3,16 cm. Prosječan omjer širine i dužine lista za muške biljke iznosi 0,28 cm, a prosječan omjer udaljenosti od osnove lista do točke najveće širine lista i dužine lista 0,58 cm. Za muške biljke najmanja izmjerena dužina lista bila je 2,5 cm, najmanja širina lista 0,4 cm, a najmanja udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista 1,3 cm. Najveća



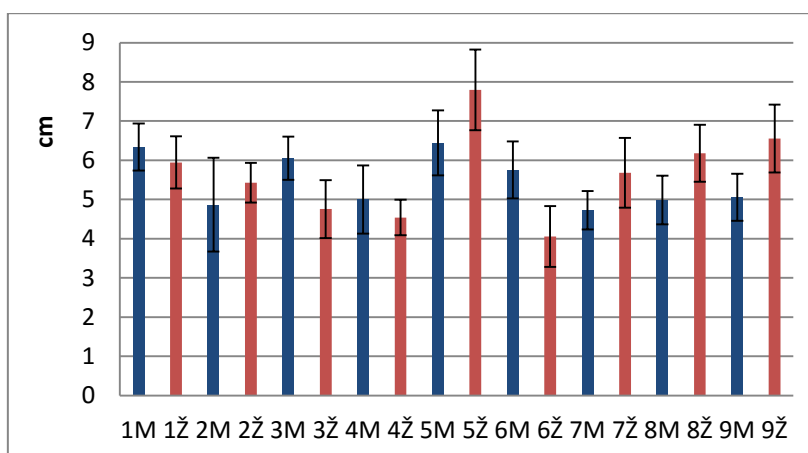
izmjerena dužina lista za muške biljke bila je 7,6 cm, najveća širina lista 2,5 cm, a najveća udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista 4,7 cm. Prosječna dužina lista za ženske biljke bijele imele iznosi 5,66 cm, širina lista 1,29 cm, a udaljenost od osnove lista do točke najveće širine 3,24 cm. Prosječan omjer širine i dužine lista za ženske biljke iznosi 0,23 cm, a prosječan omjer udaljenosti od osnove lista do točke najveće širine lista i dužine lista 0,57 cm. Najmanja izmjerena dužina lista za ženske biljke bila je 2,4 cm, najmanja širina lista 0,7 cm, a najmanja udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista 1,4 cm. Najveća izmjerena dužina lista za ženske biljke bila je 9,1 cm, najveća širina 1,9 cm, a najveća udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista 5,6 cm. Koeficijenti varijabilnosti za ovu su značajku razmjerno visoki i iznose od 26,1 do 39,0 %.

Tablica 2. Statistički parametri za morfološke značajke lišća i izbojaka muških (M) i ženskih (Ž) biljaka bijele imele

Spol imele	Parametri	D (cm)	Š (cm)	DX (cm)	Š/D	DX/D	DII (cm)		
							2012.	2013.	2014.
M	$\bar{x}$	5,47	1,49	3,16	0,28	0,58	5,88	5,56	5,31
	sd	0,97	0,35	0,64	0,06	0,04	1,69	1,97	2,07
	CV	17,79	23,61	20,17	20,77	7,76	28,77	35,39	39,04
	min.	2,5	0,4	1,3	0,13	0,44	1,9	1,9	1,5
	max.	7,6	2,5	4,7	0,45	0,73	10,5	11,7	12,3
Ž	$\bar{x}$	5,66	1,29	3,24	0,23	0,57	7,76	7,72	6,03
	sd	1,31	0,28	0,85	0,05	0,06	2,03	2,04	1,76
	CV	23,13	21,99	26,14	21,34	10,49	26,10	26,44	29,26
	min.	2,4	0,7	1,4	0,13	0,41	2,7	4,4	2
	max.	9,1	1,9	5,6	0,37	0,78	12,2	13,8	11,5

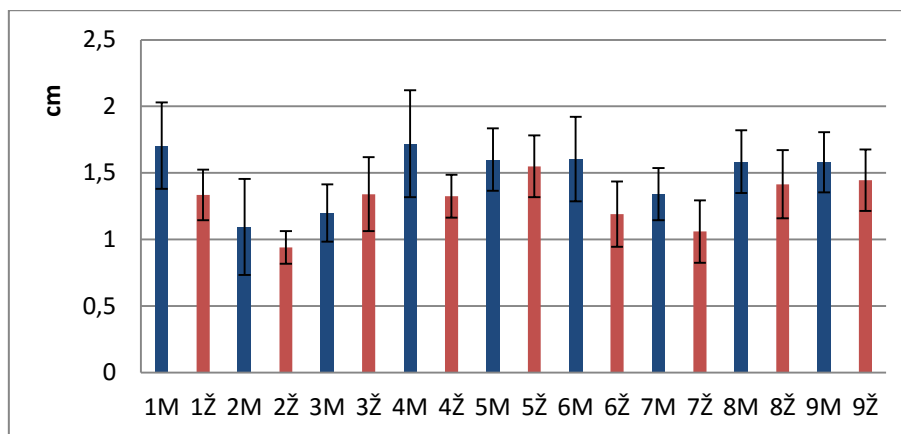
Na slikama 2. – 6. prikazane su aritmetičke sredine ($\bar{x}$) i standardne devijacije (sd) za pet značajki lista za sve uzorkovane biljke bijele imele, odnosno za muške i ženske biljke s devet različitih domaćina.

Iz slike 2. vidljivo je da su za dužinu lista i najveća i najmanja prosječna vrijednost pojedinačnih biljaka bijele imele izmjerene u ženskih primjeraka. Najveću prosječnu dužinu lista imala je ženska imela ubrana na sitnolisnoj lipi (7,8 cm), a najmanju ženska biljka ubrana na brezi (4,1 cm).



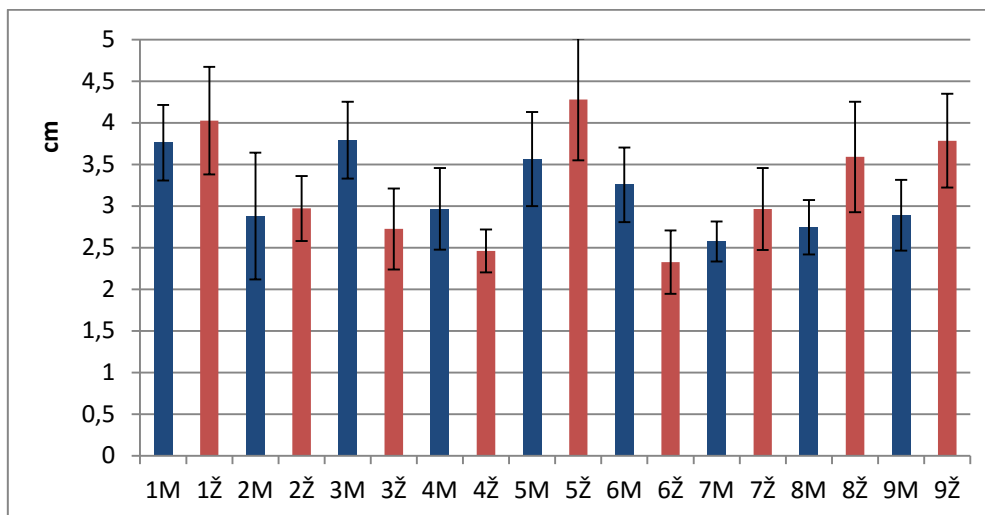
Slika 2. Dužina lista (D): aritmetička sredina +/- standardna devijacija za muške (M) i ženske (Ž) biljke ubrane na devet različitih domaćina. 1 = srebrnolisni javor, 2 = jasen, 3 = gorski javor, 4 = topola, 5 = sitnolisna lipa, 6 = breza, 7 = sremza, 8 = bagrem, 9 = klen.

Iz slike 3. vidljivo je da je za širinu lista najmanja prosječna vrijednost pojedinačnih biljaka bijele imele izmjerena u ženskog primjerka, a najveća u muškog primjerka. Najveću prosječnu širinu lista imala je muška imela ubrana na topoli (1,7 cm), a najmanju ženska biljka ubrana na jasenu (0,9 cm).



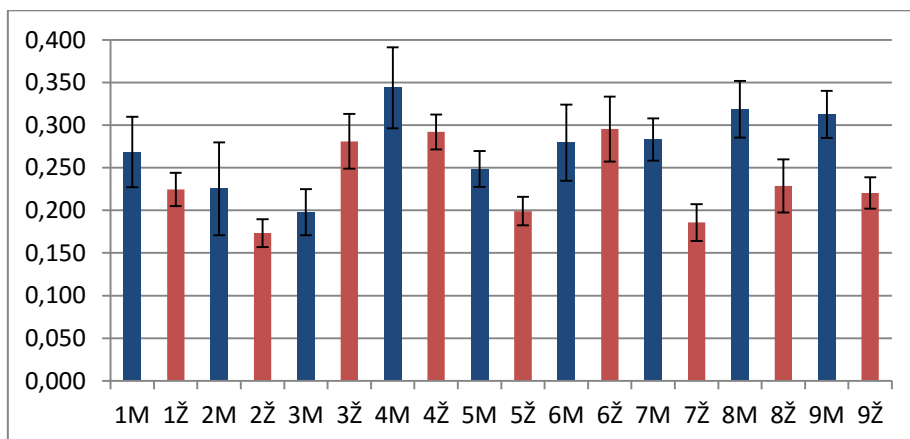
Slika 3. Širina lista (Š): aritmetička sredina +/- standardna devijacija za muške (M) i ženske (Ž) biljke ubrane na devet različitih domaćina. 1 = srebrnolisni javor, 2 = jasen, 3 = gorski javor, 4 = topola, 5 = sitnolisna lipa, 6 = breza, 7 = sremza, 8 = bagrem, 9 = klen

Iz slike 4. vidljivo je da su za udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista i najveća i najmanja prosječna vrijednost izmjerene u ženskih primjeraka. Najveću prosječnu vrijednost za ovu značajku imala je ženska imela ubrana na sitnolisnoj lipi (4,2 cm), a najmanju ženska biljka ubrana na brezi (2,3 cm).



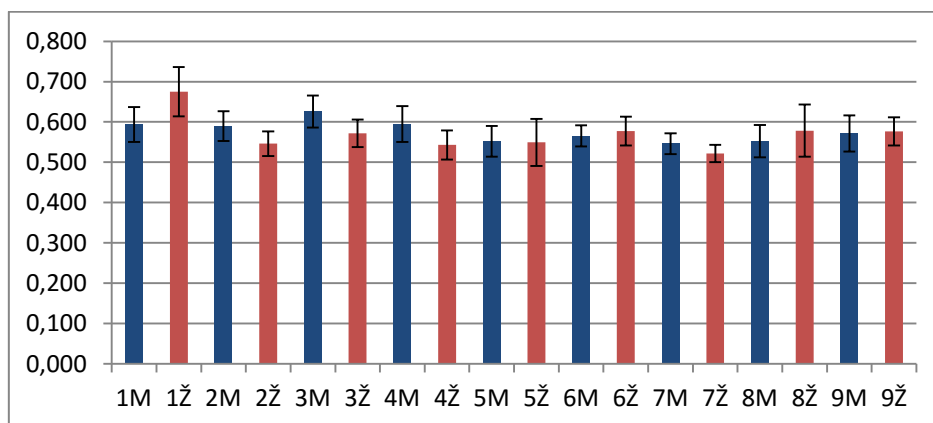
Slika 4. Udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista (DX): aritmetička sredina +/- standardna devijacija za muške (M) i ženske (Ž) biljke ubrane na devet različitih domaćina. 1 = srebrnolisni javor, 2 = jasen, 3 = gorski javor, 4 = topola, 5 = sitnolisna lipa, 6 = breza, 7 = sremza, 8 = bagrem, 9 = klen.

Iz slike 5. vidljivo je da je najveći omjer širine i dužine lista bio u muške imele ubrane na topoli (0,3 cm), a najmanji u ženske imele ubrane na jasenu (0,1 cm)



Slika 5. Širina lista/dužina lista ($\bar{S}/\bar{D}$): aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija za muške (M) i ženske (Ž) biljke ubrane na devet različitih domaćina. 1 = srebrnolisni javor, 2 = jasen, 3 = gorski javor, 4 = topola, 5 = sitnolisna lipa, 6 = breza, 7 = sremza, 8 = bagrem, 9 = klen.

Iz slike 6. vidljivo je da je najveći omjer udaljenosti od osnove lista do točke najveće širine lista i dužine lista bio u ženske imele ubrane na srebrnolisnom javoru (0,6 cm), a najmanji u ženske imele ubrane na sremzi (0,5 cm).



Slika 6. Udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista/dužina lista ($\bar{DX}/\bar{D}$): aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija za muške (M) i ženske (Ž) biljke ubrane na devet različitih domaćina. 1 = srebrnolisni javor, 2 = jasen, 3 = gorski javor, 4 = topola, 5 = sitnolisna lipa, 6 = breza, 7 = sremza, 8 = bagrem, 9 = klen.

Iz tablice 3. vidljivo je da listovi muških i ženskih biljaka bijele imele na razini signifikantnosti 99 % nisu signifikantno različiti prema dužini lista, udaljenosti od osnove lista do točke najveće širine lista i omjeru udaljenosti od osnove lista do točke najveće širine lista i dužine lista. S druge strane, listovi muških i ženskih biljaka bijele imele signifikantno su različiti prema širini lista i omjeru širine i dužine lista.



Tablica 3. Rezultati Mann-Whitney u-testa. Usporedba muških (M) i ženskih (Ž) biljaka imele za pet značajki lišća (D = dužina lista, Š = širina lista, DX = udaljenost od osnove lista do točke najveće širine lista, Š/D = omjer širine i dužine lista, DX/D = omjer udaljenosti od osnove lista do točke najveće širine lista i dužine lista)

Značajke	p
D (M) - D (Ž)	0,31
Š (M) - Š (Ž)	< 0,01
DX (M) - DX (Ž)	0,78
Š/D (M) - Š/D (Ž)	< 0,01
DX/D (M) - DX/D (Ž)	0,05

Dužina izbojaka muških i ženskih biljaka bijele imele

Prema podacima za sve tri godine zajedno, za muške i ženske biljke zajedno, bijela imela u Maksimiru prosječno je imala izbojke duge 6,4 cm. Iz tablice 1 vidljivo je da prosječna dužina izbojaka biljaka bijele imele (DII) za 2012. godinu iznosi 6,82 cm, za 2013. godinu 6,64 cm, a za 2014. godinu 5,67 cm. Iz tablice 2 vidljivo je da prosječna dužina izbojaka muških biljaka bijele imele za 2012. godinu iznosi 5,88 cm, za 2013. godinu 5,56 cm, a za 2014. godinu 5,31 cm. Najmanja izmjerena dužina izbojaka muških biljaka za 2012. i 2013. godinu iznosi 1,9 cm dok za 2014. godinu iznosi 1,5 cm. Najveća izmjerena dužina izbojaka muških biljaka za 2012. godinu iznosi 10,5 cm, za 2013. godinu 11,7 cm, a za 2014. godinu 12,3 cm. Prosječna dužina izbojaka ženskih biljaka bijele imele za 2012. godinu iznosi 7,76 cm, za 2013. godinu 7,72 cm dok za 2014. godinu iznosi 6,03 cm. Najmanja izmjerena dužina izbojaka ženskih biljaka bijele imele za 2012. godinu iznosi 2,7 cm, za 2013. godinu 4,4 cm, a za 2014. godinu 2 cm. Najveća izmjerena dužina izbojaka ženskih biljaka za 2012. godinu iznosi 12,2 cm, za 2013. godinu 13,8 cm, a za 2014. godinu 11,5 cm.

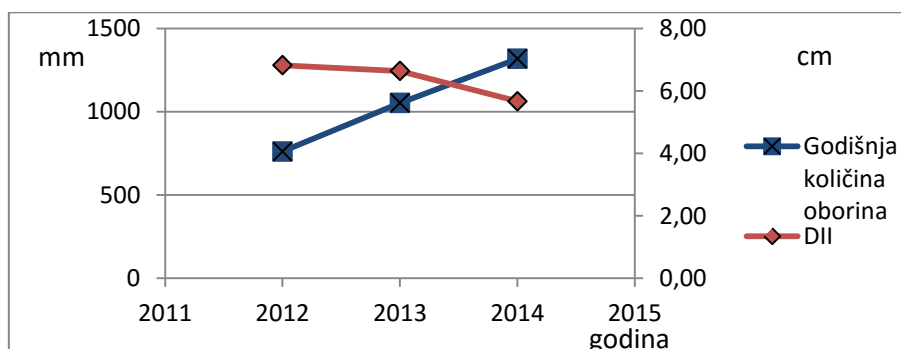
Iz tablice 4. vidljivo je da je dužina izbojaka muških i ženskih biljaka bijele imele, na razini signifikantnosti 99 %, tijekom sve tri godine (2012., 2013. i 2014.) signifikantno različita.

Tablica 4. Rezultati Mann-Whitney u-testa. Usporedba muških (M) i ženskih (Ž) biljaka imele za dužinu izbojaka (DII) u 2012., 2013. i 2014. godini.

Godina	p
2012. (M) - 2012. (Ž)	< 0,01
2013. (M) - 2013. (Ž)	< 0,01
2014. (M) - 2014. (Ž)	< 0,01

Povezanost dužine izbojaka bijele imele i godišnje količine oborina

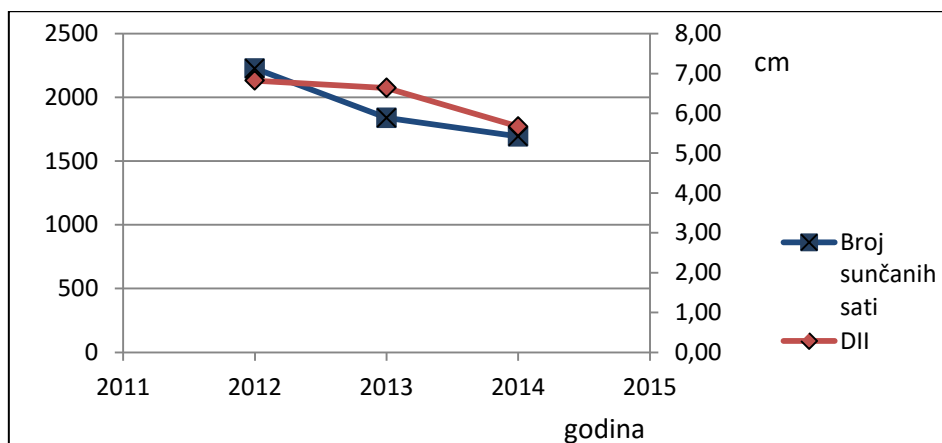
Dužina izbojaka bijele imele u čvrstoj je negativnoj korelaciji s godišnjom količinom oborina. Koeficijent korelacije (r) iznosi -0,92. Vrijednosti dužine izbojaka imele i godišnje količine oborina, po godinama, prikazane su na slici 7.



Slika 7. Točkasti dijagram korelacije dužine izbojaka imele (DII) i godišnje količine oborina u 2012., 2013. i 2014. godini.

Povezanost dužine izbojaka bijele imele i broja sunčanih sati

Dužina izbojaka bijele imele u čvrstoj je pozitivnoj korelaciji s brojem sunčanih sati za istraživano razdoblje od 2012. do 2014. godine. Koeficijent korelacije (r) iznosi 0,81. Vrijednosti dužine izbojaka imele i broja sunčanih sati, po godinama, prikazane su na slici 8.



Slika 8. Točkasti dijagram korelacije dužine izbojaka imele (DII) i broja sunčanih sati u 2012., 2013. i 2014. godini.

RASPRAVA

U parku Maksimir bijela imela dolazi na devet različitih vrsta domaćina. Sedam od tih devet vrsta već su poznate kao domaćini u Hrvatskoj i na popisu su u radu Idžojić (2003). Dvije vrste domaćina, jasen i topola, ostale su nedeterminirane. Na popisu već poznatih domaćina nalaze se dvije vrste jasena i sedam vrsta topola, ali bez točne determinacije vrsta domaćina u Maksimiru ne može se ustanoviti jesu li to nove ili već poznate vrste domaćini u Hrvatskoj. S obzirom na neusporedivo manju površinu parka Maksimir u odnosu na površinu Hrvatske, broj od devet domaćina (20 % do sada zabilježenih domaćina u cijeloj Hrvatskoj), značajan je broj. To se može protumačiti raznolikošću i brojnošću zavičajne i sađene flore u parku Maksimir (Kiš, 1998) te se time potvrđuje opravdanost izbora Maksimira za područje istraživanja. Također, ovo je istraživanje doprinos saznanju o raznolikosti flore Maksimira, kao najvećeg i najznačajnijeg zagrebačkog parka. Potvrđena je prva hipoteza da bijela imela u parku Maksimir parazitira na različitim vrstama drveća.

Prema podacima u Wikipediji (Wikipedia, 2015) dužina lišća bijele imele je 2-8 cm, a širina 0,8-2,5 cm. Prema Zuber (2008) lišće bijele imele dugačko je (1,3-) 2-8 (-10,7) cm, a široko 0,3-4,3 cm. Dužina lišća bijele imele u parku Maksimir, prema podacima iz ovoga rada, bila je 2,4-9,1 cm, a širina 0,4-2,5



cm. To znači da je u Maksimiru među mjerenim lišćem bilo uzoraka čija je dužina bila veća, kao i uzoraka čija je širina bila manja od navedenih podataka u Wikipediji (Wikipedia, 2015), ali su ti podatci unutar raspona koje navodi Zuber (2008). Također, Zuber (2008) navodi da je lišće bijele imele duguljasto i obrnuto jajoliko, što je potvrđeno ovim istraživanjem: a) lišće bijele imele u Maksimiru je duguljasto jer njegova širina prosječno iznosi četvrtinu dužine ($\text{Š}/D = 0,25$), b) lišće je obrnuto jajoliko jer je prosječno list najširi u gornjoj polovici dužine ($\text{DX}/D = 0,57$). Prema Zuber (2008) oblik i veličina lišća bijele imele značajno varira, ne samo unutar jedne jedinice, nego i između jedinki s istoga domaćina, ali i s različitih domaćina. U dostupnoj literaturi (Zuber, 2008; Wikipedia, 2015; Godet, 2000; Šilić 1973) nisu navedeni podatci o razlici u morfologiji lišća muških i ženskih biljaka bijele imele. Ovim istraživanjem utvrđeno je da se muške i ženske biljke u Maksimiru ne razlikuju statistički značajno prema dužini lišća ni prema udaljenosti od osnove lista do točke najveće širine lista, kao niti prema omjeru tih značajki. Međutim, utvrđeno je da muške biljke imaju značajno šire listove od ženskih biljaka. Također, muške biljke imale su značajno veći omjer širine i dužine lista od ženskih biljaka, što je logično jer muške biljke imaju značajno šire lišće, a to isto tako znači da ženske biljke imaju izraženije duguljasto lišće od muških biljaka. Time je potvrđena druga hipoteza da se muške i ženske biljke bijele imele razlikuju prema morfologiji lišća.

U ovome radu istražena je dužina izbojaka muških i ženskih biljaka bijele imele u 2012., 2013. i 2014. godini. Postavljena je hipoteza da ženska imela prosječno manje naraste, odnosno ima kraće izbojke od muške jer dio energije troši na proizvodnju plodova. Međutim, pokazalo se upravo suprotno, izbojci ženske imele bili su značajno duži od izbojaka muške imele za sve tri godine. Ta je razlika u 2012. godini prosječno iznosila 1,9 cm (ženske biljke 7,8 cm, muške biljke 5,9 cm). U 2013. godini razlika je bila 2,1 cm (ženske biljke 7,7 cm, muške biljke 5,6 cm), a u 2014. godini bila je 0,7 cm (ženske biljke 6,0 cm, muške biljke 5,3 cm). Gledajući ukupne podatke, za sve tri godine zajedno, ženske biljke prosječno su godišnje rasle 7,2 cm, a muške 5,6 cm, odnosno ženske su biljke prosječno rasle 1,6 cm više nego muške biljke. Time nije potvrđena treća hipoteza da ženska imela prosječno manje naraste od muške imele, već su u Maksimiru od 2012. do 2014. godine istraživani primjerci ženske imele značajno više narasli od primjeraka muške imele. Sve ženske biljke ubrane i mjerene za ovo istraživanje imale su obilje bijelih plodova, ali to očito nije imalo utjecaja na manji rast izbojaka. Nije se našlo objašnjenje tih rezultata, a ni u literaturi nije pronađena potvrda o mogućim uzrocima, jer nisu nađeni podatci o sličnom istraživanju na bijeloj imeli ili nekoj drugoj dvodomnoj biljci. Trebalo bi provesti istraživanja vezana za fiziologiju muških i ženskih biljaka bijele imele.

Prosječna godišnja količina oborina za područje Maksimira je 870 mm (DHMZ, 2015). U godinama kada je praćena dužina izbojaka bijele imele količina oborina bila je vrlo različita, jer je 2012. godina bila s manje (761 mm), a 2013. (1053 mm) i naročito 2014. godina (1318 mm) s više oborina od prosjeka. Rezultati povezanosti dužine izbojaka bijele imele i godišnje količine oborina na prvi se pogled čine nelogičnima, jer je dobivena čvrsta negativna korelacija. Odnosno, što je domaćinima bila dostupnija voda, imela je manje rasla, a imela od domaćina uzima upravo vodu s otopljenim mineralnim tvarima. Međutim, Zuber (2008) navodi da nema dokaza da bijela imela treba domaćina koji raste na staništu s puno dostupne vode te da količina oborina nema direktnog utjecaja na imelu. Negativna korelacija može biti posljedica činjenice što je u godinama s više oborina bilo manje sunca, što može imati direktan negativni utjecaj na proces fotosinteze za imelu kao izrazito heliofilnu biljku,



a time i na njen slabiji rast. Dakle, iako je prema provedenim istraživanjima potvrđena četvrta hipoteza da postoji povezanost rasta bijele imele i količine oborina u pojedinim godinama (2012., 2013. i 2014.), zapravo prema literaturi (Zuber, 2008) količina oborina, kao i mineralni sastav tla, nema direktan utjecaj na imelu, jer npr. i u sušnim godinama imela domaćinu uzima vodu u količini koja joj je potrebna, bez obzira što zbog toga domaćin trpi stres. Isti autor navodi da postoji neobjašnjeni fenomen koji vodi visokim vrijednostima transpiracije, a to je nemogućnost puči imele da reagiraju na stres uzrokovan nedostatkom vode.

Zbog prethodno navedenoga, bilo je važno utvrditi postojanje povezanosti rasta bijele imele i broja sunčanih sati u pojedinim godinama (2012., 2013. i 2014.). Peta je hipoteza potvrđena jer je prema rezultatima istraživanja dužina izbojaka bijele imele u čvrstoj pozitivnoj korelaciji s brojem sunčanih sati za razdoblje od 2012. do 2014. godine. Bijela imela kao zelena biljka sama proizvodi hranu procesom fotosinteze, a za to su joj potrebni: a) ugljični dioksid iz zraka, b) voda s otopljenim mineralnim tvarima, koju uzima od domaćina, bez obzira što zbog toga domaćin možda pati od stresa i c) sunčeva energija. U godinama s većim brojem sunčanih sati logično je da je imela mogla proizvesti više hrane te da su njeni izbojci više narasli. Naknadno je radi potpore prethodnim tvrdnjama izračunat koeficijent korelacije između godišnje količine oborina i broja sunčanih sati. Taj je koeficijent za 2012., 2013. i 2014. godinu za meteorološku postaju Maksimir iznosio -0,97. Znači da je veća količina oborina značila manji broj sunčanih sati, a manji broj sunčanih sati značio je manji rast izbojaka imele, i obrnuto.

Iz ovoga istraživanja vidljiva je povezanost biljaka s klimatskim čimbenicima. Međutim, budući da na rast imele utječu i ostali stanični čimbenici, kao i genetička konstitucija, a sve to nije moglo biti istraženo u ovome radu, ostaje još puno otvorenih pitanja i mogućnosti za daljnja istraživanja.

ZAKLJUČCI

Zaključci istraživanja morfologije lišća i rasta izbojaka muških i ženskih biljaka bijele imele s različitim domaćina u parku Maksimir:

- Bijela imela u parku Maksimir dolazi na devet različitih vrsta domaćina: srebrnolisni javor, jasen, gorski javor, topola, sitnolisna lipa, breza, sremza, bagrem i klen.
- Muške i ženske biljke bijele imele u parku Maksimir razlikuju se prema morfologiji lišća. Muške biljke imaju značajno šire listove od ženskih biljaka. Muške biljke imaju značajno veći omjer širine i dužine lista od ženskih biljaka, tj. ženske biljke imaju izraženije duguljasto lišće od muških biljaka.
- Izbojci ženskih biljaka bijele imele u parku Maksimir, u 2012., 2013. i 2014. godini, značajno su duži od izbojaka muških biljaka. Plodonošenje ne utječe na manji rast izbojaka ženskih biljaka.
- Ukupna godišnja količina oborina ne utječe na rast bijele imele. Povezanost rasta bijele imele i količine oborina u pojedinim godinama (2012., 2013. i 2014.) posredna je i posljedica je međuovisnosti količine oborina i broja sunčanih sati.
- Postoji čvrsta pozitivna povezanost rasta bijele imele i broja sunčanih sati u pojedinim godinama (2012., 2013. i 2014.), što potvrđuje da je bijela imela izrazito heliofilna vrsta.



LITERATURA

- Barney C. W., Hawksworth F. G., Geils B. W. 1998. Hosts of *Viscum album*. Eur. J. For. Path. 28: 187-208.
- Bojanić Obad Šćitaroci, B., Obad Šćitaroci M. 2004. Gradski perivoji Hrvatske u 19. stoljeću: javna perivojna arhitektura hrvatskih gradova u europskom kontekstu. Šćitaroci, Zagreb.
- DHMZ. 2015. Državni hidrometeorološki zavod. On-Line URL: <http://www.dhmz.htnet.hr>. Pristupljeno 12. 1. 2015.
- Diminić, D., Potočić N., Jazbec A., Županić M. 2011. Zaraženost bijelom imelom i status ishrane obične jele u Gorskom kotaru. Croat. J. For. Eng. 32 (1): 223-237.
- Domac, R. 2002. Flora Hrvatske. Školska knjiga, Zagreb.
- Godet, J.-D. 2000. Drveće i grmlje. Naklada C, Zagreb.
- Idžojić, M. 2003. Domaćini i rasprostranjenost bjelogorične bijele imele (*Viscum album* L. ssp. *album*) u Hrvatskoj. Šum. list 9-10: 439-447.
- Kiš, D. 1998. Hrvatski perivoji i vrtovi. Algoritam i Prometej, Zagreb.
- Mudrinjak, D. 1974. Maksimir - nekad i sad. Hrvatsko književno društvo sv. Ćirila i Metoda, Zagreb. MS Office Excel. 2007. Microsoft Office Excel 2007, version 12.
- Nikolić, T. (ur.) 2015. Flora Croatica baza podataka / Flora Croatica Database. On-Line URL: <http://hirc.botanic.hr/fcd/> Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Pristupljeno 17. 12. 2014.
- Park-Maksimir. 2015. Javna ustanova "Maksimir". On-Line URL: <http://www.park-maksimir.hr>. Pristupljeno 14. 1. 2015.
- Schafner, W., Häfelfinger B., Ernst B. 1999. Ljekovito bilje: kompendij. Leo-commerce, Rijeka.
- Šilić, Č. 1973. Atlas drveća i grmlja. Zavod za izdavanje udžbenika, Sarajevo.
- Šilić, Č. 1990. Ukrasno drveće i grmlje. Svjetlost, Sarajevo.

ODREĐIVANJE VRSTA EPIFITSKIH LIŠAJEVA U ZAGREBU KAO INDIKATORA ČISTOĆE ZRAKA

Marija Grebenar, 3.razred

Marita Mesić, 3.razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: Vesna Burušić

SAŽETAK

Lišajevi su mnogostanični organizmi nastali simbiozom gljiva (mikobiont) i fotosintetskih organizama (fotobiont). Tijelo lišajeva morfološki i fiziološki sjedinjuje milijune cijanobakterija ili zelenih algi unutar mase hifa (gljiva mješinarke). Lišajevi su osjetljivi na onečišćenje zraka, posebice na prisutnost SO_2 . Rastom određenih vrsta na nekim područjima, možemo zaključiti kakvo je onečišćenje zraka. Glavni je cilj ovog rada bio utvrditi čistoću zraka Zagreba pomoću lišajeva kao praktičnih bioindikatora anorganskog onečišćenja zraka. Naša je pretpostavka bila da bi u onim dijelovima Zagreba koji su bliže Medvednici (Medvednica, Mihaljevac i zapad) trebalo biti više vrsta lišajeva netolerantnih ili umjereno tolerantnih na onečišćenje, a na onim onečišćenijim lokacijama (istok, centar i jug) trebale bi biti one vrste koje podnose onečišćenja, odnosno koje nisu toliko osjetljive na onečišćenje zraka i prisutnost sumporovog (IV) oksida. Tijekom istraživanja, na 6 lokacija sabrano je ukupno 150 uzoraka sa 60 stabala. Nakon toga, uzorci su determinirani uz pomoć talijanskih ključeva. Prema „Skalama za utvrđivanje kakvoće zraka pomoću epifitskih lišajeva“ vrste su razvrstane prema zonama onečišćenosti u kojima rastu u Zagrebu te je određen udio vrsta koje rastu u pojedinim zonama onečišćenosti. Tako je statističkim, Kruskal-Wallis, testom određeno da ne postoji statistički značajna razlika u čistoći zraka među pojedinim lokacijama grada Zagreba. Deskriptivnom statistikom prisutnosti pojedinih vrsta lišajeva utvrđeno je da je cijeli Zagreb srednje onečišćen. Time nismo potvrdili našu hipotezu jer se ispostavilo da je i Medvednica srednje onečišćena. Budući da je u Hrvatskoj lihenološka literatura vrlo oskudna kao i broj lihenoloških istraživanja, dodatni cilj ovog rada bio je izraditi slikovnu tablicu najčešćih vrsta lišajeva grada Zagreba kategoriziranih prema tolerantnosti na onečišćenje zraka. Stoga smatramo da je ovaj rad vrijedan doprinos istraživanjima lihenoflore u Hrvatskoj (Zagrebu).

Ključne riječi: *hrvatska lihenoflora, bioindikator, pioniri vegetacije, simbioza, onečišćenje sumporovim(IV)oksidom, slikovna tablica najčešćih vrsta lišajeva*

UVOD

Građa lišaja

Lišajevi su mnogostanični organizmi nastali simbiozom gljiva (mikobiont) i fotosintetskih organizama (fotobiont). U simbiozi najčešće sudjeluju gljive mješinarke s cijanobakterijama ili zelenim algama (Prilog 1.). Tijelo lišajeva morfološki i fiziološki sjedinjuje milijune fotosintetskih organizama unutar mase hifa i predstavlja jedan oblik simbiogeneze. U ovoj zajednici gljive imaju zaštitnu ulogu, opskrbljuju vodom i mineralnim tvarima, a alge ili cijanobakterije posjeduju sposobnost fotosinteze i stvaranja organskih spojeva koji se prenose heterotrofnom mikobiontu (Bogut i sur., Alfa, 2014.).

Razmnožavanje

Razmnožavanje lišajeva može biti spolno (askosporama) i vegetativno. Najčešće je vegetativno, stvaranjem soredija. Sorediji su tvorevine okruglastog oblika sastavljene od stanice alga obavijenih spletom hifa (Prilog 2.).

Morfološki oblici lišajeva

S obzirom na veličinu i izgled talusa razlikujemo sljedeće morfološke oblike: korasti lišaj (u Hrvatskoj *Candelariella xanthostigma* (Prilog 3.), listasti lišaj (u Hrvatskoj *Parmelia sulcata* (Prilog 4.) i grmasti lišaj (*Evernia prunastri* (Prilog 5.))



Osobine lišajske simbioze

Lišaj može biti pričvršćen za tlo (terestrički), stijenu (epilitski) ili živjeti na drugim organizmima npr. dendroflori, s kojima nije nikada u fiziološkom kontaktu (epifitski). Epifiti su organizmi koji se nastanjuju na stablima ili na granama krošnji kako bi na taj način zauzeli povoljnije mjesto s obzirom na Sunčevu svjetlost (Denffer, Školska knjiga, 1982.). Lišajevi stvaraju životne uvjete za razvoj drugih biljaka te ih zbog toga još nazivamo pionirima vegetacije (Bačić, Školska knjiga, 1997.).

Indikatori čistoće zraka

Lišajevi su osjetljivi na onečišćenje zraka, posebice na prisutnost SO_2 . Zahvaljujući rastu određenih vrsta lišajeva na nekim područjima, možemo zaključiti kakvo je onečišćenje zraka. Ako nema lišajeva, jasno je da se radi o velikom onečišćenju, posebno u industrijskim područjima koja iskorištavaju fosilna goriva čijim izgaranjem u atmosferu odlazi znatna količina ugljikova dioksida, sumporovih i dušikovih oksida. Zbog toga lišajeve nazivamo „bioindikator zagađenja“ (Moore i sur., 1995.). Istražujući pojavljivanje 50-ak vrsta lišajeva na drveću u Engleskoj i Walesu, Hawksworth i Rose (1970.) izradili su polu-kvantitativnu tablicu za procjenu srednje godišnje koncentracije SO_2 u zraku te su lišajeve podijelili u 7 zona procjene onečišćenosti koju podnose (Prilog 8.-10.). Sposobnost lišajeva da akumuliraju elemente u uskoj svezi s atmosferskim razinama tih elemenata dovela je do njihove široke primjene kao praktičnih bioindikatora anorganskog onečišćenja zraka. Prednosti koje nam nude u kontroli kvalitete zraka daleko su jeftinije i jednostavnije, nego instrumentalne metode kontrole onečišćenja. Jedan takav epifitski lišaj, *Hypogymnia physodes*, upotrijebljen je za kontrolu onečišćenja zraka u području grada Sarajeva (Žeželj, Biologija.com.hr). Te su činjenice poznate lihenolozima već od prošlog stoljeća, ali kod nas ima vrlo malo radova koji se bave spomenutom problematikom (Munjko, Priroda, 1974.). Čest onečišćivač zraka je sumporov dioksid (SO_2) koji pridonosi kiselim kišama. Onečišćivači zraka otopljeni u kišnici, posebice SO_2 , mogu oštetiti lišajeve i spriječiti njihov rast. Zato ih i koristimo kao indikatore čistog zraka. **Grmast** (žbunjasti) lišajevi za rast trebaju jako čist zrak, **listasti** mogu preživjeti male količine onečišćivača zraka, dok **korasti** mogu preživjeti i na jako onečišćenom zraku. Na nekim mjestima lišajevi ne rastu te je to često znak da je zrak jako onečišćen sumporovim dioksidom. Svi organizmi imaju svoj ekološki minimum i maksimum, tj. ekološku valenciju, pa tako i lišajevi. Ekološki minimum najmanji je intenzitet nekog čimbenika da bi organizam opstao, dok je ekološki maksimum najveći intenzitet nekog čimbenika koji organizam može podnijeti. Ekološka valencija raspon je između ekološkog minimuma i maksimuma za neki čimbenik unutar kojeg je moguć opstanak organizma (Bogut; Čerba i sur., Alfa 2014). Zbog toga se tolerantnost pojedine vrste lišajeva mjeri prema maksimalnoj količini SO_2 koju ona može podnijeti, odnosno prema ekološkom maksimumu. Iako se u Zagrebu nalazi veliki broj epifitskih lišajeva, do sada nema lihenoloških istraživanja koja bi povezala vrste lišajeva sa čistoćom zraka tog milijunskog grada. Kako su Moore i suradnici (1995) zabilježili, tijekom 20. stoljeća lišajevi su diljem svijeta nestali iz velikih gradova i njihove okolice, no, na sreću, u Zagrebu ih nalazimo u velikom broju.

OBRAZLOŽENJE TEME

Otkad smo u 7. razredu osnovne škole prvi put, te u 2. razredu srednje škole, ponovno spomenuli lišajeve, naučili smo da postoje tri vrste lišajeva (žuta zdjeličarka, lakmusovka i islandski lišaj). Od tada smo se pitali postoje li i neke druge, nama, nepoznate vrste te smo se tako zainteresirale za lišajeve. Također smo naučili da su lišajevi pokazatelji čistog zraka, tj. da su osjetljivi na onečišćenje zraka,



posebice na prisutnost SO_2 te da gotovo uopće ne uspijevaju u velikim gradovima. No, je li zaista tako i u Zagrebu? Naša nas je profesorica biologije potaknula da razmislimo o ovom pitanju. Naime, ona živi u Dubravi, u četvrti u kojoj mnoga domaćinstva još uvijek koriste drva za ogrjev te je zrak toliko zasićen dimom da se tamo „jedva diše“. Posljednje što bi se očekivalo jest da u tom dimu rastu lišajevi – indikatori čistoga zraka. No, suprotno očekivanju, profesorica kaže da je četvrt puna lišajeva. Kako bismo utvrdili „zbrku“ oko lišajeva i onečišćenog zraka u Dubravi, odlučili smo istražiti kakva je kvaliteta zraka u toj zagrebačkoj četvrti, ali i u nekim drugim četvrtima te jesu li postojeći lišajevi i dalje pokazatelj čistog zraka ili su se prilagodili na suvremeno onečišćenje. Prema istraživanju **Ministarstva zaštite okoliša i prirode** u Dubravi vlada čist zrak te se, prema čistoći zraka, Zagreb ubraja među najčišće gradove Europe. Iz godišnjeg izvješća **Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada** vidljivo je da se mjerne postaje za praćenje kvalitete zraka nalaze na šest mjesta u gradu Zagrebu te je prema njihovim mjerenjima zagrebački zrak **umjereno onečišćen (II. kategorije) dušikovim (IV) oksidom** (produktom ispušnih plinova automobila) u svim dijelovima grada. Glede drugih onečišćenja potvrđuje se da se Grad Zagreb ubraja među najčistije gradove u Europi i ima kvalitetu zraka **I. kategorije**. Onečišćenost zraka može se utvrditi iz tablica **Agencije za zaštitu okoliša** u kojima se navodi da su, prema rezultatima istraživanja Svjetske zdravstvene organizacije World Health Organization, WHO, 2003, **razorne komponente zagađenja zraka** sljedeće: sitne lebdeće čestice (PM10), sumporov (IV) oksid (SO_2), ugljikov (II) oksid (CO) i dušikov (IV) oksid (NO_2). U našem radu osvrnut ćemo se na onečišćenost zraka **sumporovim (IV) oksidom** (SO_2) budući da su lišajevi posebno osjetljivi upravo na njega.

Ciljevi našeg istraživanja jesu:

- 1) **utvrditi sastav flore epifitskih lišajeva** na dendroflori šest odabranih lokacija grada Zagreba;
- 2) **procijeniti kakvoću zraka** (vezanu uz onečišćenje sumporovim dioksidom) grada Zagreba **primjenom indikatorskih vrijednosti lišajske flore** i životnih oblika (Prilog 8.-10.)
- 3) **sabrane lišajeve podijeliti u skupine** s obzirom na tolerantnost, odnosno netolerantnost prema onečišćenju zraka (Prilog 8.-10.);
- 4) **od fotografija naših zagrebačkih lišajeva oblikovati vlastitu slikovnu tablicu**, sličnu tablici pronađenoj na internetskoj stranici koja bi u budućnosti služila zainteresiranim učenicima i nastavnicima osnovnih i srednjih škola Zagreba (ali i cijele Hrvatske) za upoznavanje i determinaciju lišajeva iz svoje okoline;
- 5) **odrediti relativnu zastupljenost** pojedinih morfoloških oblika nađenih lišajeva u Zagrebu.

Zbog činjenice da se Zagreb nalazi podno Medvednice, koja je zbog velike bioraznolikosti proglašena Parkom prirode i najčišća je lokacija u Zagrebu, naša je **hipoteza** da bi u onim dijelovima Zagreba koji su bliže Medvednici (Medvednica, Mihaljevac i zapad) trebalo biti više vrsta lišajeva netolerantnih ili umjereno tolerantnih na onečišćenje, a na onim onečišćenijim lokacijama (istok, centar i jug) trebale bi biti one vrste koje podnose onečišćenja, odnosno koje nisu toliko osjetljive na onečišćenje zraka i prisutnost sumporovog (IV) oksida.



MATERIJAL I METODE RADA

Područje grada Zagreba za uzimanje uzoraka lišajeva

Zagreb je smješten na sjeverozapadu Hrvatske, podno Parka prirode Medvednica. Za ovo istraživanje odabrano je šest lokacija u gradu Zagrebu. Za **centar** grada odabrano je područje Trga maršala Tita, odnosno Klaićeva ulica, ovisno o tome gdje budu pronađena stabla s lišajevima. Za **sjever** je odabran Mihaljevac, za **zapad** Gajnice i Malešnica, za **istok** Dubrava, a za **jug** Dugave. Za Park prirode **Medvednica** odabrane su dvije lokacije i to okolica planinarskoga doma Glavica i Kraljičin zdenac. U Tablici 1 prikazani su podatci godišnjeg udjela SO_2 u zraku grada Zagreba u razdoblju od 1.1.2014. do 1.1.2015. godine. Naši rezultati dobiveni procjenom onečišćenosti zraka pomoću **lišajeva kao bioindikatora** (Van Haluwyn, Lerond, 1986.; Hawksworth, Rose. 1970.) uspoređivani su s maksimalnim godišnjim vrijednostima.

Tablica 1. Srednji godišnji udio SO_2 u zraku grada Zagreba (<http://goo.gl/l5zv6F> i <http://goo.gl/ciEbZp>)

MJERNE POSTAJE	SREDNJA GODIŠNJA VRIJEDNOST SO_2 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	MAKSIMALNA GODIŠNJA VRIJEDNOST SO_2 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
ZAGREB-1 centar	5.5231	38.638
ZAGREB-2 istok	3.898	26.768
ZAGREB-3 jug	3.3642	37.164
VRHOVEC zapad	2.3874	37.023
BIJENIK: PP Medvednica i Mihaljevac	2.1877	36.185

Metode rada

Sabiranje uzoraka lišajeva

Epifitski lišajevi, koji rastu na različitim vrstama drveća na području Zagreba, sabrani su na odabranim lokacijama s deset vrsta listopadnih stabala. Tijekom sabiranja lišajeva popunjavani su terenski listići te se listići prilažu u vrećice s uzorkom. Uzorci nisu sakupljani s crnogoričnih stabala jer su ona u Zagrebu većinom posađena, zbog čega ne mogu biti prirodna dendroflora za lišajeve (Opća enciklopedija, 1977.). No, to neće utjecati na rezultate zbog vrlo malog broja lišajeva na tim stablima. Vrste listopadnog drveća nisu determinirane jer su uzorci sakupljeni tijekom zime kad je drveće bez lišća te bi determinacija vrsta bila otežana i neprecizna.

Prije nego se sastružu s kore, lišajevi su fotografirani kako bi bili razvrstani u vlastitu tablicu (Tablica 4.).

Za ovo istraživanje sabrano je po **25 uzoraka** lišajeva (Slika 1.) s kora drveća **10 stabala** na svakoj odabranoj lokaciji grada Zagreba. Dakle, sa **6 lokacija**: istočne, zapadne, sjeverne, južne, zatim iz centra grada te iz parka prirode Medvednica sabrano je **ukupno 150 uzoraka lišajeva s ukupno 60 stabala**.



Slika 1. Primjer epifitskih lišajeva koje treba sabrati i determinirati (<http://goo.gl/Az8zT0>)

Lišajski materijal sastrugan je s kore stabala i grana drveća do visine oko 2 m iznad tla. **Grmast** primjerci se rukom odvoje od podloge, a za skidanje većih **listastih** lišajeva koristi se nož ili odvijač. Sabrani materijal sprema se u plastične ili papirnate vrećice zajedno s podacima na terenskom listiću, a sva dodatna opažanja o sabranim lišajevima bilježe se u terenski dnevnik (blok): njihova lokacija na stablu, podatci o onečišćenosti zraka s mjernih postaja (NO_2 , SO_2 , CO i PM_{10}) te rezultati koji se tijekom istraživanja postupno dobivaju. Sabrani uzorci lišajeva zatim su razvrstani prema mjestu iz kojeg su doneseni te su odneseni na determinaciju.

Determinacija lišajeva

Prilikom determinacije korištena je voda za rehidraciju uzoraka (ako su bili dehidrirani), lupa, priručnici (ključevi) i specijalizirana lihenološka literatura za određivanje vrsta lišajeva na terenu i u laboratoriju, iglice za prepariranje, papirnate kuverte, kadice u kojima se određuju osobine pojedinih vrsta te terenski dnevnik.

Lišajevi su, po potrebi, rehidrirani u kadici te determinirani po talijanskom ključevima u kojima su sličice vrsta lišajeva s najosnovnijim podacima koji služe za okvirno određivanje roda i vrste. Ako je bilo potrebno, korištene su i lupe. U početnom determiniranju lišajeva pomagala nam je članica udruge BIUS, sekcije za lišajeve, Monika Tunjić. U detaljnijoj determinaciji pomogla nam je zagrebačka lihenologinja, Anamarija Partl, koja radi u Državnom zavodu za zaštitu prirode, a koja je jedna od rijetkih osoba u Hrvatskoj koje se bave lišajevima. Nakon primarne eliminacije uz pomoć ključeva, na internetu se potraže detaljnije informacije i slike te odredi vrsta. Dobiveni se podatci uspoređuju i s izvještajima i znanstvenim radovima u kojima su opisane vrste prisutne u Hrvatskoj, kao što je Diplomski rad Maksime Vujnović iz Osijeka.

Statistička obrada podataka

Budući da nije očekivana prisutnost više od 30 vrsta lišajeva, odabrane su statističke metode za mali broj uzoraka. Kako bi se provjerilo postoji li statistički značajna razlika između dijelova grada Zagreba u zagađenosti zraka indiciranog prisustvom pojedinih vrsta lišajeva, korišten je Kruskal-Wallisov test (Tablica 2.). Radi se o neparametrijskom testu, što znači da se koristi kada dobiveni rezultati nemaju normalnu raspodjelu. Taj test zapravo predstavlja test analize varijance, samo se umjesto brojčanih



mjernih podataka služi rangovima (prema Petz i sur., 2012.). Cilj mu je provjeriti postoji li razlika u rezultatima između više nezavisnih skupina. Brojevi su uvršteni u SPSS program, koji onda, preko Kruskal-Wallis testa, izračuna postoji li značajna statistička razlika između vrsta lišajeva nađenih na pojedinim lokacijama te se time otkriva ima li veće razlike između čistoće zraka pojedinih lokacija.

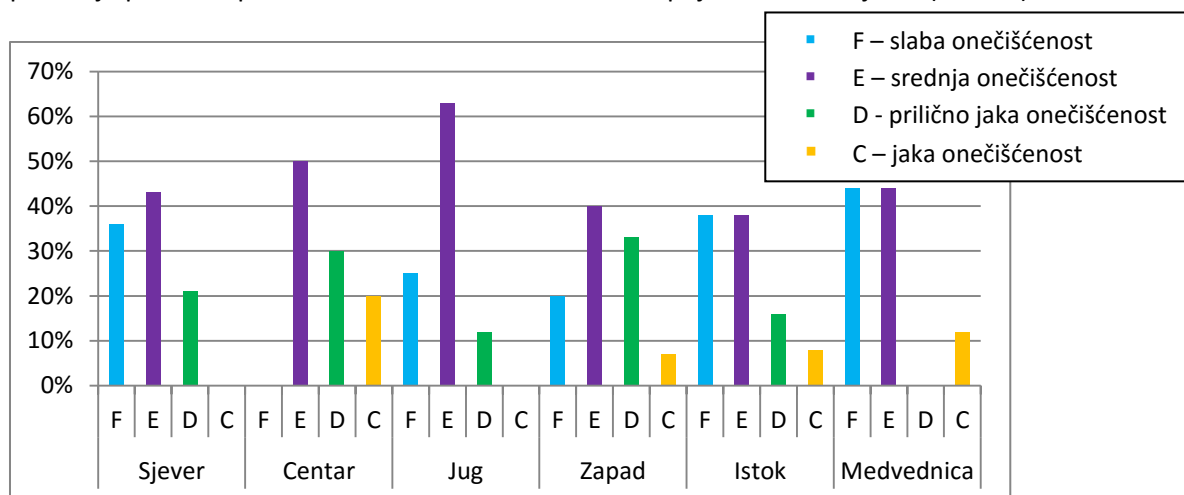
Izrada vlastite slikovne tablice za prepoznavanje i kategoriziranje zagrebačkih lišajeva

Tablica za prepoznavanje zagrebačkih lišajeva napravljena je odabirom najboljih fotografija najčešće uzorkovanih vrsta koje su kategorizirane prema procjeni onečišćenosti zraka u kojoj vrste obitavaju. Također, uz sliku i naziv vrste označen je i morfološki oblik pojedinog lišaja (korasti, listasti ili grmasti) (Tablica 4.).

REZULTATI

Obrađena prikupljenih podataka

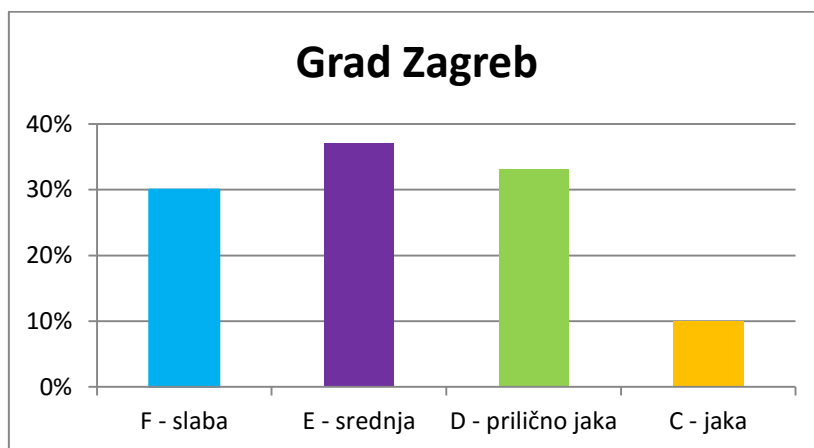
U tablicama (Prilog 6.) prikazane su vrste lišajeva nađene na pojedinim lokacijama. Svaka je vrsta označena **jednom bojom** koja prikazuje stupanj njihove tolerancije prema onečišćenom zraku. Za svaku vrstu lišaja određena je **zona onečišćenosti** u kojoj vrsta najčešće raste, tj. zonu za koju je vrsta karakteristična. U tu svrhu korištena je **skala** za utvrđivanje kakvoće zraka pomoću epifitskih lišajeva (Prilog 8.-10.). Ta se **skala** dijeli na zone koje zastupaju određeni stupanj onečišćenosti. Postoji sedam zona (A-F) od kojih **4 zone obuhvaćaju naše pronađene vrste** (C,D,E,F), odnosno procjenu onečišćenosti u rasponu od slabe do jake. Zone su označavane bojama: **plava** predstavlja zonu slabe onečišćenosti – F, **ljubičasta** zonu srednje onečišćenosti – E, **zeleno** predstavlja zonu prilično jake onečišćenosti – D, a **žuta** zonu jake onečišćenosti - C. Prema tim tablicama napravljen je graf koji prikazuje postotke prisutnosti vrsta određenih zona na pojedinim lokacijama (Slika 2.).



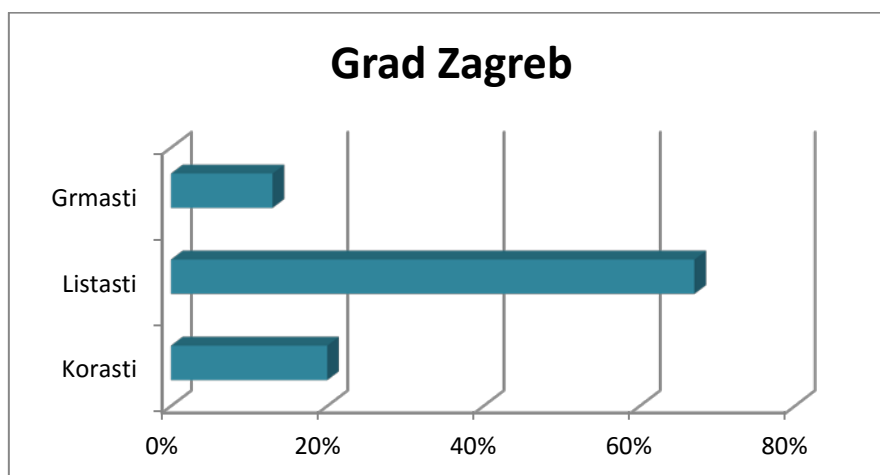
Slika 2. Postotci pojedine skupine lišajeva podijeljenih prema njihovoj tolerantnosti (boje) i lokacijama

Iako je na svakoj lokaciji sakupljeno po 25 uzoraka sa 10 stabala, među uzorcima je nađen različit broj vrsta, čime varira broj nađenih vrsta na svakoj postaji. Na **sjeveru** je nađeno **14 vrsta** lišajeva od kojih je 5 tolerantno na slabu onečišćenost, 6 na srednju onečišćenost i 3 na prilično jaku onečišćenost. Vrste tolerantne na jaku onečišćenost nisu pronađene. U **centru** je nađeno **10 vrsta**, od kojih je 5 vrsta lišajeva tolerantno na srednju onečišćenost i 3 na prilično jaku onečišćenost te 2 tolerantne na jaku onečišćenost. Na **jugu** je nađeno **8 vrsta**, 5 tolerantnih na srednju onečišćenost, 2 na slabu i 1 na

prilično jaku onečišćenost. Na **zapadu** je nađeno **15 vrsta**, od kojih su 3 tolerantne na slabu onečišćenost, 6 na srednju onečišćenost, 5 na prilično jaku onečišćenost i 1 na jaku onečišćenost. Na **istoku** je nađeno **13 vrsta**, 5 ih je tolerantno na slabu onečišćenost, 5 na umjerenu onečišćenost, 2 na prilično jaku onečišćenost i 1 na jaku onečišćenost. Na **Medvednici** je pronađeno **9 vrsta**, jednak broj vrsta je tolerantan na slabu i srednju onečišćenost (4) te jedna koja je tolerantna na jaku onečišćenost (Prilog 6.). Postotci zona kojima pripadaju nađene vrste prikazani su na slici 3., dok je na slici 4. prikazan udio morfoloških oblika nađenih vrsta.



Slika 3. Postotci vrsta lišajeva podijeljenih prema tolerantnosti određenog onečišćenja zraka u gradu Zagrebu



Slika 4. Udio pojedinih morfoloških oblika lišajeva u gradu Zagrebu

Kruskal-Wallisov test

Analiza naših rezultata upućuje na to da **ne postoji** statistički značajna razlika između kvalitete zraka u pojedinim dijelovima grada Zagreba uzimajući u obzir zastupljenost različitih vrsta lišajeva (Tablica 2. i 3.). Na to nas upućuje vrijednost „značajnost“ u tablici 3. koja je veća od 0.05.



Tablica 2. Rangovi nađenih vrsta po lokacijama i procjeni onečišćenosti

	dio grada	N	Rang
jaka	Medvednica	1	4.00
	Mihaljevac	1	1.50
	Zapad	1	4.00
	Jug	1	1.50
	Istok	1	4.00
	Centar	1	6.00
	Total	6	
prilicno jaka	Medvednica	1	1.00
	Mihaljevac	1	3.00
	Zapad	1	6.00
	Jug	1	3.00
	Istok	1	3.00
	Centar	1	5.00
	Total	6	
srednja	Medvednica	1	2.00
	Mihaljevac	1	6.00
	Zapad	1	5.00
	Jug	1	2.00
	Istok	1	4.00
	Centar	1	2.00
	Total	6	
slaba	Medvednica	1	4.00
	Mihaljevac	1	5.50
	Zapad	1	3.00
	Jug	1	2.00
	Istok	1	5.50
	Centar	1	1.00
	Total	6	

Tablica 3. Statistički test ^a

	Jaka	prilicno jaka	srednja	slaba
HI-kvadrat	5.000	5.000	5.000	5.000
St. slobode	5	5	5	5
značajnost	.416	.416	.416	.416

Slikovna tablica zagrebačkih lišajeva

Slikovnu tablicu sabranih lišajeva kategoriziranih prema zonama onečišćenosti prikazuje Tablica 4.

Tablica 4. Najčešće vrste lišajeva u gradu Zagrebu raspoređene po procjeni onečišćenosti koju podnose i morfološkom obliku

		VRSTE			
Procjena onečišćenosti zraka sa SO ₂	SLABA	 <i>Parmelia tiliacea</i> - L	 <i>Parmelia subaurifera</i> - L	 <i>Flavoparmelia caperata</i> - L	 <i>Parmelia subrudecta</i> - L
	SREDNJA	 <i>Xanthoria parietina</i> - L	 <i>Parmelia sulcata</i> - L	 <i>Hypogymnia physodes</i> - L	 <i>Evernia prunastri</i> - G
	JAKA	 <i>Lepraria</i> sp. - K	 <i>Physcia tenella</i> - L	 <i>Phaeophyscia orbicularis</i> - L	 <i>Lecidella elaeochroma</i> - K

Legenda: K – korasti lišaj, L – listasti lišaj, G – grmasti lišaj

RASPRAVA

Iz rezultata se može vidjeti kako na svim odabranim lokacijama grada Zagreba prevladavaju lišajevi tolerantni na **srednju onečišćenost zraka sa SO₂** (ljubičasta boja u Prilogu 6.). Na **jugu** je najveći postotak vrsta lišajeva tolerantnih na **srednje** onečišćen zrak, dok je na Medvednici najveći postotak onih vrsta lišajeva tolerantnih na **slabu** onečišćenost koji je ujedno jednak postotku vrsta tolerantnih na **srednje** onečišćen zrak. Također se vidi da u **centru** uopće nema lišajeva koji su tolerantni na **slabu** onečišćenost, dok na **sjeveru i jugu** nisu pronađene vrste tolerantne na **jaku** onečišćenost zraka sa SO₂. Iako nas statistički (Kruskal-Wallisov) test svojom vrijednošću „značajnost“ u Tablici 3, koja je veća od 0.05, upućuje da značajne razlike zapravo nema, ipak se pomoću **deskriptivne statistike**



podataka koju smo napravili, vidi kako postoje neke manje razlike (Prilog 7.). Činjenicu da u **centru** nije pronađena nijedna vrsta koja je karakteristična za zonu **slabe** onečišćenosti potvrđuje podatak da je najveći postotak onih vrsta koje su tolerantne na **jaku** onečišćenost. U području **centra**, točnije na Trgu maršala Tita, pronađene su vrste *Lecanora chlorotera* i *Lepraria sp.*, koje rastu u zonama **jake** onečišćenosti. Stoga možemo zaključiti kako je u centru ipak malo onečišćeniji zrak nego na drugim lokacijama što se slaže s podacima godišnjeg udjela SO_2 u zraku grada Zagreba izmjerenih u mjernoj postaji Zagreb -1. U **centru** bi uzrok većeg onečišćenja zraka od ostalih dijelova grada bio promet, tj. ispušni plinovi automobila koji štetno djeluju na čistoću zraka. Na **sjeveru** tj. Mihaljevcu, i na **jugu**, nisu pronađene vrste koje su karakteristične za zonu **jake** onečišćenosti pa zaključujemo kako je ondje zrak čišći nego na ostalim lokacijama. Na **sjeveru brojnošću** prevladavaju vrste karakteristične za **srednju** onečišćenost, zatim vrste karakteristične za **slabu** pa one za prilično **jaku** onečišćenost. Na **jugu** prevladavaju vrste karakteristične za **srednju**, zatim one za **prilično jaku** pa one za **slabu** onečišćenost. Prema tome zaključujemo kako je zrak **čišći na sjeveru nego na jugu**. Naši rezultati pokazali su kako je onečišćenje zraka na **Medvednici**, podjednako onečišćenju zraka u **Dubravi**, odnosno u oba područja **vlada srednje onečišćen** zrak što se **ne slaže s našom hipotezom**, tj. hipoteza nije potvrđena. Smatramo kako bi uzrok onečišćenja zraka na Medvednici mogao biti štetni utjecaj kiselih kiša i emisijskih plinova koje vjetar donosi na Medvednicu te rast stabala s glatkom korom (bukva i grab). Naime, glatka stabla neće imati lišajeve ako nisu u dovoljno vlažnim uvjetima. Iako je prema našim rezultatima vidljivo kako je **Dubrava srednje onečišćena**, tamo je pronađena **strogo zaštićena** *Usnea sp.*, vrsta lišaja karakteristična kao **indikator slabog onečišćenja**. Zbog toga je moguće da ipak pojedini dijelovi, zbog maksimirske šume, pripadaju zoni slabog onečišćenja zraka što možemo i vidjeti iz tablice mjerne postaje Zagreb -2, koja pokazuje kako je maksimalni udio razine SO_2 najmanji od ostalih pet lokacija, tj. 4 mjerne postaje. Procjena onečišćenosti zraka koja je dobivena korištenjem lišajeva kao bioindikatora slaže se s podacima u tablici 1. koji pokazuju maksimalni udio SO_2 u zraku, odnosno slaže se sa činjenicom kako je **Zagreb srednje onečišćen grad**. To vidimo i na grafu (Slika 3.), u kojem se vidi kako u Zagrebu prevladavaju vrste lišajeva karakteristične za srednju onečišćenost zraka sa SO_2 . Iz Priloga 6. vidimo da su najčešće zagrebačke vrste *Xanthoria parietina* i *Parmelia sulcata*, obje listastog oblika, indikatori **srednje** onečišćenog zraka te da se nalaze na svakoj lokaciji. Nađena su 33 uzorka *Xanthorie parietine* te 28 uzoraka *Parmelie sulcate* od ukupno 150 uzoraka. Jedini nedostatak ovog istraživanja jest mali broj uzoraka na cjelokupnu populaciju lišajeva grada Zagreba, zatim što su uzorci skidani po slučaju pa broj vrsta nije ujednačen po lokacijama, što i nije u potpunosti moguće jer su vrste različito raspoređene po stablima nekog prostora. Na svakoj su lokaciji pronađene vrste koje su karakteristične za različite zone procjene onečišćenosti. Zbog navedenih razloga ne možemo sa sigurnošću precizno odrediti kojoj zoni onečišćenosti pripada pojedina lokacija. No, rezultati nisu zanemarujući jer se, bez obzira na mali broj uzoraka, može deskriptivno donijeti zaključak. Uz procjenu kakvoće zraka grada Zagreba, koju smo odredili pomoću dobivenih rezultata, odredili smo i udio određenih morfoloških oblika nađenih uzoraka koji pokazuje kako **listaste vrste**, sa značajnom razlikom (Slika 4.), prevladavaju u Zagrebu, što također potvrđuje naš zaključak u vezi kakvoće zraka grada Zagreba i to zbog činjenice da **listasti lišajevi preživljavaju u srednje onečišćenom zraku na kori drveća**. Dakle, Zagreb pripada II. kategoriji po čistoći zraka. U manjem udjelu prisutni su i **grmast lišajevi**, koji su karakteristični za područja s **čistim** zrakom te isto tako i **korasti lišajevi** karakteristični za područja s **onečišćenim** zrakom. Zbog nepostojjećih istraživanja vezanih uz ovu temu u našem gradu, i općenito u cijeloj



Hrvatskoj, nažalost, nemamo s čime usporediti naše rezultate. Stoga je i realizacija ovog rada bila otežana budući da nismo imali neke sigurne podatke na koje bismo se mogli osloniti. Sukladno tome, napravljena je tablica najčešćih vrsta lišajeva grada Zagreba, u kojoj su oni podijeljeni prema zonama za koje su karakteristični te su prikazane slikama i određen im je morfološki oblik; ona je napravljena s namjerom da služi kao literatura za buduće znanstvene radove na ovu temu te kao korisna informacija za one koji žele saznati više o lišajevima nego što se uči u školi.

Naše rezultate djelomično smo mogli usporediti samo s rezultatima Vujnović (2013.) koja je analizirala lišajeve kampusa u Osijeku i to samo s brojem nađenih vrsta. Kao i u našem radu, ona je našla najviše uzoraka *Xanthoria parietina* te još 6 vrsta (*Candelariella reflexa*, *Evernia prunastri*, *Flavoparmelia caperata*, *Parmelia sulcata*, *Physcia adscendens* i *Physcia tenella*) koje su nađene i u Zagrebu. Također, Vujnović je pronašla najveći udio listastih lišajeva, kao i mi. No, ostatak tog rada ne poklapa se s našim istraživanjem jer taj rad nije obuhvaćao određivanje vrsta lišajeva u odnosu na kvalitetu zraka.

ZAKLJUČCI

- ❖ određena je **flora** lišajeva grada Zagreba koja obuhvaća **30 različitih vrsta lišajeva**
- ❖ najčešće zagrebačke vrste su *Xanthoria parietina* i *Parmelia sulcata*, a najrjeđa *Usnea sp.*
- ❖ određivanjem lišajeva kao indikatora čistoće zraka, u Zagrebu prevladava **srednje onečišćen zrak**
- ❖ deskriptivnom statistikom pokazano je da je zrak najčišći na sjeveru, a najonečišćeniji u centru
- ❖ **ne postoji** statistički značajna razlika između kvalitete zraka u pojedinim dijelovima grada Zagreba uzimajući u obzir zastupljenost različitih vrsta lišajeva
- ❖ u Zagrebu prevladavaju **listasti lišajevi**
- ❖ u Zagrebu nema vrsta lišajeva tolerantnih na ekstremnu onečišćenost zraka, kao ni onih karakterističnih za vrlo čist zrak
- ❖ iako je i **Dubrava** srednje onečišćena, tamo je pronađena **strogo zaštićena** *Usnea sp.*, vrsta lišaja koja je **indikator slabog onečišćenja**.

LITERATURA

- Agencija za zaštitu okoliša, Godišnje izvješće o praćenju kvalitete zraka na području Republike 2013., URL: <http://iszz.azo.hr/iskzl/>, pristupljeno 15.12.2014
- Agencija za zaštitu okoliša, Usporedba srednjih godišnjih vrijednosti, URL: <http://iszz.azo.hr/iskzl/podatak.htm?pid=156>, pristupljeno 15.12.2014.
- Anonymus, Air pollution, BBC - GCSE Bitesize, URL: http://www.bbc.co.uk/schools/gcsebitesize/science/edexcel/problems_in_environment/pollutionrev2.shtml, pristupljeno 24.12.2014.
- Anonymus, Čovjek i priroda, URL: <http://www.pp-medvednica.hr/priroda/covjek-i-priroda/>, pristupljeno 21.12.2014.
- Anonymus, ITALIC The Information System on Italian Lichens, URL: <http://dbiodbs.univ.trieste.it/italic/italic03>, pristupljeno 5.1.2015.
- Anonymus, LIAS – A Global Information System for Lichenized and Non-Lichenized Ascomycetes, URL: <http://www.lias.net/>, pristupljeno 5.1.2015.
- Bačić, T.; Erben R.; Raznolikost živog svijeta, Školska knjiga, Zagreb, 1997., str. 49.
- Bogut, I.; Čerba, D.; Marceljak Ilić, M.; Đumlija, S.; Lichtenthal, M., Biologija 4, 2014., Alfa, Zagreb, str. 129.
- Bogut, I.; Futivić, I.; Špoljarević, M.; Bakarić, A., Biologija 2, 2014., Alfa, Zagreb, str. 54.-55.
- Denffer, von D.; Ziegler, H., Botanika, 1982., Školska knjiga, Zagreb
- Domac, R., Botanika, 1987., Školska knjiga, Zagreb, str. 43.-45.
- Državni hidrometeorološki zavod, Kvaliteta zraka, Istraživanje kvalitete zraka, URL:



<http://vrijeme.hr/kz/zrak.php?id=modeliranje>, pristupljeno 14.12.2014.

Caspar center 2008., Green Book, Lišajevi kao indikatori zagađenosti vazduha,

<http://www.casparcenter.org/zelenaknjiga/pages/eko-vazduh-lisaj.htm>, pristupljeno 24.12.2014.

Gilbert O., 2000., Lichens. Harper Collins Publishers, London. 288 pp.

Hawksworth; Rose, Skala za utvrđivanje kakvoće zraka pomoću epifitskih lišajeva, na neeutrofiziranoj kori, korištena u Velikoj Britaniji, 1970., Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb

Hawksworth; Rose, Skala za utvrđivanje zraka pomoću epifitskih lišajeva, na eutrofiziranoj kori, korištena u Velikoj Britaniji, 1970., Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb

Moore, R.; Clark, W.D.; Stern, K.R.; Vodopich, D., Botany, Wm. C. Brown Publishers, 1995. – 609. Str., 19. red

Munjko I., 1974., O biokemijskoj aktivnosti lišajeva, Priroda, časopis hrvatskog prirodoslovnog društva, Zagreb

Petz, B., Kolesarić, V., Ivanec, D. (2012.) Petzova statistika, Osnovne statističke metode za nematematičare, Naklada Slap, Jastrebarsko

Skupina autora, Opća enciklopedija Jugoslavenskog leksikografskog zavoda, 2, C-Fob, Zagreb, 1977., str. 200.

Službene stranice grada Zagreba, Zagreb.hr, Kvaliteta zraka, URL: <http://www.zagreb.hr/default.aspx?id=499>, pristupljeno 14.12.2014.

Van Haluwyn; Lerond, Skala za utvrđivanje kakvoće zraka pomoću epifitskih lišajeva, korištena na sjeveru Francuske, 1986., Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb

Vujnović, M., Diplomski rad, 2013., URL:

<http://biologija.unios.hr/webbio/wp-content/uploads/2014/diplomski/znanstveni/maksima.vujnovic.pdf>, pristupljeno 14.12.2014.

Žeželj B., Biologija.com.hr, Kakva je važnost lišajeva za čovjeka?, URL:

<http://biologija.com.hr/modules/AMS/article.php?storyid=8404>, pristupljeno 16.12.2014.

RAST I KLIJANJE BILJAKA POD UTJECAJEM ASPIRINA I SALICILNE KISELINE

Mihovil Mandić, 3. razred

Dominik Herek, 3. razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: Romana Halapir Franković

SAŽETAK

Biljni hormon salicilna kiselina nalazi se u vrbinoj kori u većoj koncentraciji u odnosu na ostale dijelove biljke. Salicilna kiselina potiče reakciju imunološkog sustava biljke koja može trajati i do godinu dana te cijelo vrijeme štiti biljku od mikroorganizama i omogućava brži rast i razvoj. U lijeku Aspirinu postoji acetilsalicilna kiselina koja ima isto djelovanje kao i prirodna. Htjeli smo istražiti utjecaj prirodne i komercijalne salicilne kiseline na određene vrste. Tablete Aspirina smo zdrobili i otopili u vodi, a ogulili smo koru vrbe s grančica i prokuhali je u vodi da dobijemo traženu prirodnu otopinu.

Mungo grah, rikolu, rotkvicu, pšenicu i grašak dnevno smo tretirali otopinama salicilne kiseline iz ekstrakta vrbine kore (B), pola tablete Aspirina (A1) te četvrtine tablete Aspirina (A2). Također smo imali kontrolnu skupinu zalijevanu samo vodom. Zbog dodatnih biljnih hormona u vrbinoj kori pretpostavili smo da će biljke tretirane tom otopinom biti najuspješnije te narasti najveće. Druga pretpostavka bila nam je da će otopina s manjim udjelom Aspirina biti druga najuspješnija, a da će otopina s većim udjelom negativno utjecati na biljke te će biljke tretirane tom otopinom izrasti do male visine. Tretirali smo sjemenke, a kad su proklijale nastavili smo tretman i na rastućim biljkama, kojima smo dnevno mjerili visinu stabljike te bilježili podatke da vidimo koja otopina ima najbolji utjecaj na visinu stabljike biljke. Uspoređivali smo ostale skupine s kontrolnom. Kod svih vrsta potvrdili smo svoje pretpostavke, osim kod pšenice. Pšenica je najbolje narasla kad je bila tretirana otopinom s manjim udjelom Aspirina. To objašnjavamo tako da je u otopini salicilne kiseline koncentracija biljnih hormona prevelika za pšenicu do te razine da inhibira rast njenog korijena.

Iz rada smo zaključili da prirodna otopina salicilne kiseline ima najbolji učinak na rast biljaka i moguće je vrlo lako napraviti otopinu koja može poslužiti da ubrza rast biljaka. Zaključili smo i da otopine s umjerenom koncentracijom acetilsalicilne kiseline imaju bolje djelovanje na biljke od otopina s većom koncentracijom.

Ključne riječi: *auksini, indol-3-octena kiselina, bijela vrba, mungo grah, rikola, rotkvica, pšenica, grašak*

UVOD

Salicilna kiselina je fenolni biljni hormon (Zeiger i Taiz, 2002.) koji signalizira aktivaciju obrane biljke protiv mikroorganizama. Protein koji prima signal hormona je vrlo važan za sprječavanje infekcija jer uzrokuje smrt stanica oko infekcije dok se infekcija tek razvija i time zaustavlja njezino širenje. Protein također sprečava širenje drugih vrsta napada na biljku. Imunitet možemo pojačati zalijevanjem biljke vodom s udrobljenim Aspirinom koji također sadrži salicilnu kiselinu te stimulira imunitet biljke koja se tada može bolje boriti protiv napada. To omogućava biljci brži rast i rast do veće veličine. Jednom izazvana reakcija obrane može trajati i do godinu dana ili više te cijelo vrijeme štiti biljku. Istraživanja (Cornell University, 2003.) biljnog imuniteta provedena su na duhanu.

Salicilna kiselina ($C_7H_6O_3$) nalazi se u svim biljkama, a najviše u kori bijele vrbe. Prirodna salicilna kiselina se esterificira te se dobiva acetilsalicilna kiselina ($C_9H_8O_4$) koja se koristi u komercijalnom Aspirinu jer ima duži vijek trajanja. Istraživanje (Afsharypour i Kazeroony, 1994.) na jednom iranskom medicinskom sveučilištu je pokazalo da najstarija testirana bijela vrba (godinu dana starosti) prosječno sadrži 0.413 % salicina u svojoj kori, a najmlađa 0.263 %. Drugo istraživanje (Kenstavičienė i Nenortienė, 2009.) dokazuje da sve bijele vrbe starije od dvije godine imaju oko 2 % (točnije 1.87 % naviše) salicina. Taj se postotak godišnje sitno povećava što je vrba starija, no kod *Salix alba* L. ne



prelazi 2 %. To bi značilo da bi 35 g kore dalo oko 650 mg salicina odnosno jednu cijelu tabletu Aspirina. Ta količina bila bi smrtonosna za čovjeka jer kora sadrži tanine. Tanini su prirodni organski spojevi biljnog porijekla (stabljika i listovi sadrže tanin), a imaju ljekovita svojstva. Pretjeranim korištenjem dolazi do trovanja taninima, no budući da su tanini u svakoj biljci, oni neće utjecati na biljke.

Salicin je alkoholni glikozid koji je aktivni sastojak u ekstraktu vrbine kore. To su sitni kristali žućkasto bijele boje koji izgledaju poput praha. On se u organizmu pretvara u salicilnu kiselinu koja ima identičan učinak kao i Aspirin, no s manje nuspojava poput krvarenja želuca od predoziranja Aspirinom.

Kora vrbe sadrži i auksine (McGill School California, 2009.). Auksini (Faculty of Life Sciences Taiwan, 2000.) su grupa fitohormona koji sudjeluju u mnoštvu uloga kod biljaka poput fototropizama, razvitka ploda i rasta korijenja. Najzastupljeniji auksin kod vrbe je indol-3-octena kiselina (IAA, $C_{10}H_9NO_2$), a njen glavni učinak je stimulacija rasta korijenja. Istraživanja su pokazala (Bahatti i Naeem, 2004.) da visoka koncentracija IAA kiseline može dovesti do inhibiranja rasta stanica korijenja, ali potaknuti rast izdanaka. Hipokrat je u 5. stoljeću prije Krista pisao o gorkom prahu koji se dobiva iz kore, a da ublažava vrućicu i glavobolju. Godine 1828., francuski i njemački znanstvenici su iz kore izolirali salicin. Tvrtka Bayer je odmah počela sintetizirati acetilsalicilnu kiselinu i reklamirati lijek „Aspirin“, koji ublažava bolove i temperaturu.

Aspirin sadrži više od 90 % acetilsalicilne kiseline koja također dokazano djeluje na biljke. Njenom primjenom možemo postići prije opisane efekte kod biljaka. Salicilna kiselina također u biljci inhibira apscizinsku kiselinu (ABA) koja je odgovorna za dormanciju pupova i sjemenki, zatvaranje puči i otpadanje listova (Zeiger i Taiz, 2002.). Inhibiranjem apscizinske kiseline, biljka bi trebala kraće biti u stanju mirovanja odnosno brže rasti. Neka istraživanja (ODEC, 2003.) o utjecaju Aspirina na klijavost i rast graha pokazala su da manje doze (10 – 25 mg) daju najbolje rezultate. Veće doze (25 – 40 mg) su poboljšavale broj korijenja, ali je rast biljke bio otprilike jednak kao i kod biljaka bez Aspirina. Doze veće od 40 mg su štetile biljci i rast je bio slabiji.

Koncentrirana salicilna kiselina može biti opasna odnosno postaje otrov. Postoje istraživanja (Wecker i Laubert, 2004.) koja dokazuju da ukoliko se proguta, salicilna kiselina oštećuje slušne organe tako što inhibira prestin. Prestin je protein koji se nalazi u dlačicama u zvukovodu te ih pokreće kako bi se prenosio zvuk prema srednjem uhu. Pretjerana upotreba Aspirina i salicilne kiseline može dovesti do salicilizma (Wikipedia.org, 2014.), poznat kao „trovanje Aspirinom“. Salicilna kiselina se koristi i u neke medicinske svrhe kao sredstvo za uklanjanje bradavica, akni ili za čišćenje lica.

OBRAZLOŽENJE TEME

Čitajući tekst o Aspirinu kao lijeku koji se često koristi kao analgetik, antipiretik i antiupalni lijek iznenadio nas je podatak da je osnovni sastojak Aspirina zapravo biljni hormon salicilna kiselina. Salicilna kiselina usporava fiziološko starenje biljke i vjerojatno inhibira biosintezu etilena. Ujedno inducira klijanje i cvjetanje, inhibirajući sintezu apscizinske kiseline.



Istraživanja na Sveučilištu Cornell pokazala su da biljke ispuštaju salicilnu kiselinu kada su ugrožene mikroorganizmima. Ovo otkriće je važno jer je sada moguće pojačati imunitet biljke i omogućiti bolji razvoj bez korištenja štetnih pesticida. U našem radu odlučili smo provjeriti neke od ovih spoznaja.

Cilj rada:

- Istražiti općenit utjecaj acetilsalicilne kiseline iz Aspirina na klijavost i rast nekoliko biljnih vrsta, te usporediti s utjecajem salicilne kiseline dobivene iz prirodnog materijala.
- Ispitati i usporediti ponašanje sjemena i proklijalih biljaka zalijevanjem otopinama različitih udjela Aspirina i prirodno dobivenom salicilnom kiselinom te usporediti učinkovitost u odnosu na vodovodnu vodu.

Pretpostavljamo da će otopina ekstrakta vrbine kore najviše poboljšati rast i klijavost jer sadrži indol-3-octenu kiselinu uz salicilnu. Otopina s umjerenim udjelom Aspirina bi također trebala imati pozitivan utjecaj na rast i klijavost. Negativan utjecaj na rast i klijavost trebala bi imati otopina s najvećim udjelom otopljenog Aspirina.

MATERIJAL I METODE RADA

Za ovaj rad koristili smo pet različitih vrsta biljaka: mungo grah, rikolu, rotkvicu, grašak, pšenicu (tablica 1, slika 1). Pri izboru vrsta biljaka važnu ulogu je imala dostupnost sjemena i brzina klijavosti izabrane vrste. Također smo odabrali dio vrsta čije su sjemenke manje i zahtijevaju manje tekućine, a dio s većim sjemenkama koje trebaju više tekućine kako bismo vidjeli veću razliku u rezultatima. Sjemenke smo nabavili u trgovini *bio&bio*.

Tablica 1. Sistematika korištenih biljnih vrsta

Sistematika	Mungo grah	Rikula	Rotkvica	Grašak	Pšenica	Bijela vrba
Carstvo	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae
Divizija	Angiosper	Angiosper	Angiosper	Angiosper	Magnoliophy	Magnolioph
Razred	Eudicots	Eudicots	Eudicots	Eudicots	Liliopsida	Magnoliopsi
Red	Fabales	Brassicales	Brassicales	Fabales	Poales	Malpighales
Porodica	Fabaceae	Brassicaceae	Brassicaceae	Fabaceae	Poaceae	Salicaceae
Rod	Vigna	Eruca	Raphanus	Pisum	Triticum	Salix
Vrsta	<i>V. radiata</i>	<i>E. sativa</i>	<i>R. sativus</i>	<i>P. sativum</i>	<i>T. aestivum</i>	<i>S. alba</i>

Mungo grah (Vegirecept.com, 2014.) (*Vigna radiata*) ili zelena soja potječe iz Indije. Zrna su mala, zelene boje i ovalnog oblika, a rastu na uspravnoj penjačici visokoj do 150 cm. Zrele mahune su tamnožute ili crne boje te sadrže 10 – 15 zrna. Zahtijeva dobro navodnjavanje. Pretjerana vlažnost uzrokuje manji prinos. Veoma je hranjiv jer zrna sadrže velike količine bjelancevina i vlakana.

Rikola (Sirova Hrana, 2014.) (*Eruca sativa*) je lisnata, brzorastuća, samonikla biljka koja se najčešće upotrebljava u gastronomiji. Naraste do 60 cm. Vrijedan je izvor minerala i vitamina. Sadrži fitokemikalije koje imaju pozitivna antioksidativna svojstva. Bogata je klorofilom i sumpornim spojevima koji čiste organizam.

Rotkvica (*Raphanus sativus*) jednogodišnja je biljka. Plod je komušica koja je svijetlo smeđe ili crvenkaste boje, a sadrži do 6 sjemenki. Najbolje raste pri temperaturama od 17 °C. Zahtijeva umjerenu vlagu u humoznom tlu, a ima prilično plitak korijen. Počinje se sijati u veljači ili ožujku. Sadrži obilnu količinu kalija i vitamina C.

Grašak (*Pisum sativum*) je jednogodišnja biljka, a pripada zrnastim mahunarkama. Sadrži dosta bjelančevina. Korijen prodire do 130 cm i vrlo je dobro razgranat. Vrh listova ima viticu koja služi biljci da se prihvati za oslonac. Uzgaja se u uvjetima umjerene ili vlažne klime, a najbolje raste na temperaturi od 18 °C. Zahtijeva dosta sunca i potrebno mu je obilno navodnjavanje. Zbog toga pretpostavljamo da bi grašak mogao pozitivno reagirati na zalijevanje otopinama s udjelom salicilne kiseline.

Pšenica (*Triticum aestivum*) najvažnija je žitarica u ljudskoj prehranu. Sadrži vitamin B i dobro je probavljiva. Doseže 100 – 150 cm u visinu. Odgovara joj temperatura od 14 do 20 °C. Ne smije joj nedostajati vlage jer ukoliko dođe do toga dobit ćemo manji broj klasića i manju duljinu klasa. Odgovaraju joj duboka tla bogata humusom.

Bijela vrba (*Salix alba*) je bjelogorična vrsta drveća, a pripada vrbama. Raste kao drvo do visine od 20 m ili kao grm u nizinskim šumama. Godišnje naraste otprilike 45 cm. Vrhovi grana su karakteristično savinuti prema dolje. Uz listove ima kratke, žute cvjetne priperke koji imaju 2 prašnika. Svi dijelovi bijele vrbe sadrže salicin, a najviše ga ima u kori. Zbog te karakteristike odabrali smo je samo za izradu prirodne otopine salicilne kiseline iz ekstrakta njene kore (slika 1). *Salix alba* L. (slika 6.) je prepoznatljiva po tome što sadrži bijeli prah na kori. Uzorci kore uzeti su s vrbe iz privatnog dvorišta na području Maksimira u Zagrebu.



Slika 1. Namakanje sjemenki rotkvice, mungo graha, graška, pšenice, rikule i guljenje kore s grančica bijele vrbe

Bayer Aspirin® Protect 100 mg

U našem radu koristili smo Aspirin u dozama od 50 mg (1/2 tablete) i 25 mg (1/4 tablete). Ovaj proizvod se redovito preporuča jednom dnevno koristiti jer pomaže radu srca i smanjuje opasnost od srčanog udara. Cijela tableta sadrži točno 100 mg acetilsalicilne kiseline.



Sjemenje svake biljne vrste podijelili smo u četiri skupine prema otopinama kojima su bile tretirane : **kontrolna, A1, A2, B**. Kontrolna je tretirana vodovodnom vodom, A1 i A2 komercijalnim Aspirinom, a B skupina prirodnom salicilnom kiselinom iz vrbine kore.

Prvo smo trebali saznati je li naša vrba vrste *Salix alba* L. odnosno radi li se o bijeloj vrbi. Naše stablo usporedili smo s karakteristikama u literaturi (Lindell, 2015.). Budući da je iz privatnog dvorišta, znamo da je stara 12 godina. Provjerili smo taj podatak tako da smo visinu drveta podijelili s prosječnim godišnjim rastom (45 cm). Vrba je starija od dvije godine što znači da sigurno sadrži oko 2 % salicilne kiseline prema istraživanjima (Kenstavičienė i Nenortienė, 2009.).

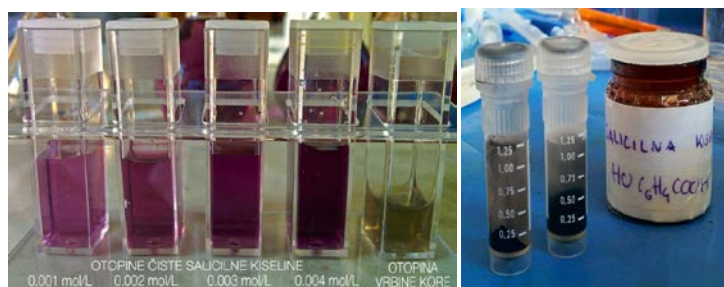
Izrezali smo komadić kore iz bijele vrbe dovoljno duboko da dobijemo i unutrašnju koru koja sadrži kiselinu. Različita iskustva (Courts, 2014.) vezana uz oštećivanje kore pokazala su da se kora bijele vrbe brzo regenerira i to ne narušava njen životni vijek. Budući da nam je 3 grama bilo dovoljno ($3 \text{ g} \cdot 2 \% \text{ salicina} = 60 \text{ mg salicina}$) da postignemo približnu količinu salicina kao u A1 i A2 skupini, potrebna nam je ta količina kore za svaki dan pokusa ($21 \cdot 3 \text{ g} = 63 \text{ g}$) i za svaku sadnicu. Prije rezanja kore nismo mogli precizno odrediti masu komadića kojeg režemo, pa smo vagali svaki komadić koji smo odrezali dok nismo postigli otprilike 70 grama. Također smo ogulili koru sa grančica (slika 1) i na isti način je iskoristili.

Za A1 (100 mg/dcl) i A2 (50 mg/dcl) skupinu, tekućine za zalijevanje pripremali smo tako da smo zdrobili 100 mg u 1 dcl vode za A1 te 100 mg u 2 dcl vode za A2. Sve skupine iste vrste su zalijevane jednakim količinama pripadajućih otopina. Grašak ima veću sjemenku pa mu je za opstanak vitalnih funkcija potrebna i veća količina tekućine dnevno u odnosu na druge vrste.

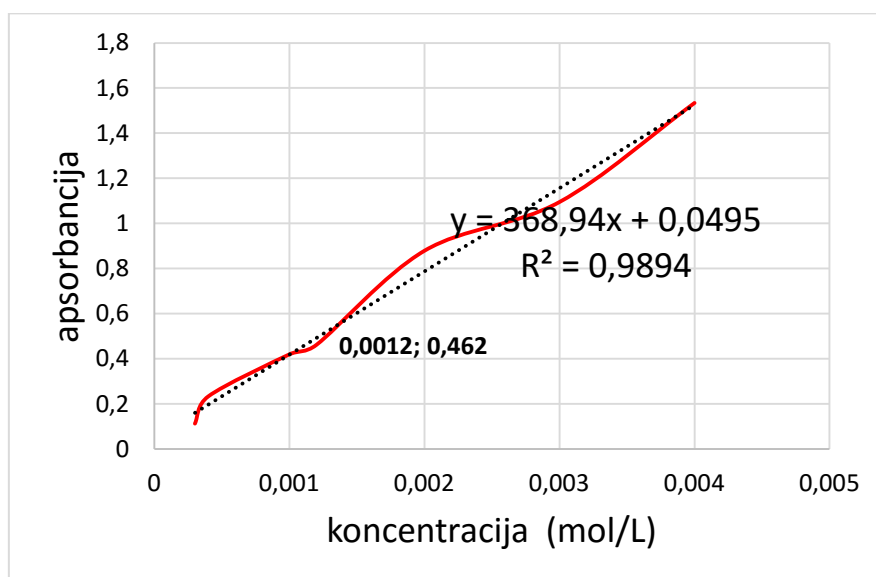
Prirodni ekstrakt salicilne kiseline za B skupinu napravili smo na sljedeći način. Uzeli smo 63 grama vrbine kore (slika 1) i prokuhali u 1.05 L vode (ista koncentracija kao 3 g u 0.5 dcl) kako bismo imali otopine za svaki dan istraživanja. Prvo smo prokuhali vodu, ubacili grančice i polako miješali i kuhali dvadesetak minuta. Boja vode je postala tamnocrvena pri završetku kuhanja. Profiltrirali smo tekućinu od komadića kore. Dobivena tekućina je homogena smjesa salicilne kiseline i obične vode s kojom se sada može zalijevati sjeme.

U školskom kemijskom laboratoriju dokazali smo prisutnost salicilne kiseline u našoj otopini vrbine kore i približno odredili koncentraciju. Budući da je salicilna kiselina fenol, koristili smo željezov (III) klorid (FeCl_3) koji je indikator za fenole (daje ljubičastu ili zelenu boju). Dodavanjem male količine (jedna do dvije kapi) otopine FeCl_3 u otopinu ekstrakta vrbine kore, smjesa je promijenila boju u zelenu što dokazuje prisutnost salicilne kiseline (slika 2.). Zatim smo pripremili otopine čiste salicilne kiseline (slika 2.) u koncentracijama od 0.001, 0.002, 0.003 i 0.004 mol/L. Školskim kolorimetrom odredili smo njihovu apsorbanciju na vidljivom dijelu svjetlosnog spektra (valna duljina od 535 nm). Pomoću dobivenih vrijednosti napravili smo graf baždarenja kolorimetra za otopinu čiste salicilne kiseline (slika 3.). Naša otopina prirodne salicilne kiseline je crvene boje zbog pigmenata iz kore, pa nismo odmah mogli kolorimetrom odrediti apsorbanciju. U kivetu smo stavili 1 mL otopine prirodne salicilne kiseline i 0.1 g aktivnog ugljena koji je na sebe vezao crveni pigment iz otopine (slika 2). Kada je otopina potpuno izgubila crveni pigment, kivetu smo centrifugirali 5 minuta školskom centrifugom, profiltrirali sadržaj i stavili u kolorimetar. Dobili smo vrijednost apsorbancije (0.462 pri 535 nm) naše

prirodne salicilne kiseline i pronašli je na krivulji baždarenja kako bismo dobili koncentraciju (0.0012 mol/L). Dobivena koncentracija otprilike je jednaka 10 mg Aspirina u 0.5 dcL vode. Postoji mogućnost pogreške jer smo koncentraciju eksperimentalno određivali u školskoj učionici (Gil i Martinez – Merino, 2007.).



Slika 2. Otopine različitih koncentracija čiste salicilne kiseline i otopina ekstrakta vrbine kore i reakcija aktivnog ugljena na uzorke



Slika 3. Graf baždarenja kolorimetra za salicilnu kiselinu

Klijanje

Za svaku vrstu pripremili smo 4x20 sjemenki za klijanje tako da smo više od 100 sjemenki svake vrste na dvadesetak minuta namakali u vodi (slika 1). Odabrali smo one sjemenke koje su nabubrile i potonule jer je za njih veća vjerojatnost (Mala Eko Sjemenarna, 2014.) da će proklijati za razliku od onih koje su isplivale na površinu. Sjemenke su bile tretirane tako što je svaka prvo bila položena na tanki sloj vate i zemlje u plastičnu zdjelicu ili tanjurić (slika 4). A1, A2 i B skupina od samog početka istraživanja bile su zalijevane pripadajućim otopinama. Nakon što su sjemenke proklijale, bilježili smo klijavost odnosno koliko ih je proklijalo u odnosu na početni broj (20). Kada je većina sjemenki proklijala, odabrali smo 10 u svakoj skupini koje su imale najveću klicu. Proklijale sjemenke pažljivo smo izvadili pincetom te svaku posadili u odvojenu posudicu i nastavili tretman. Ostatak sjemenki kontrolne skupine zasadili smo u teglicu kako bi poslužile kao moguće rezerve.



Slika 4. Gotova klijalista

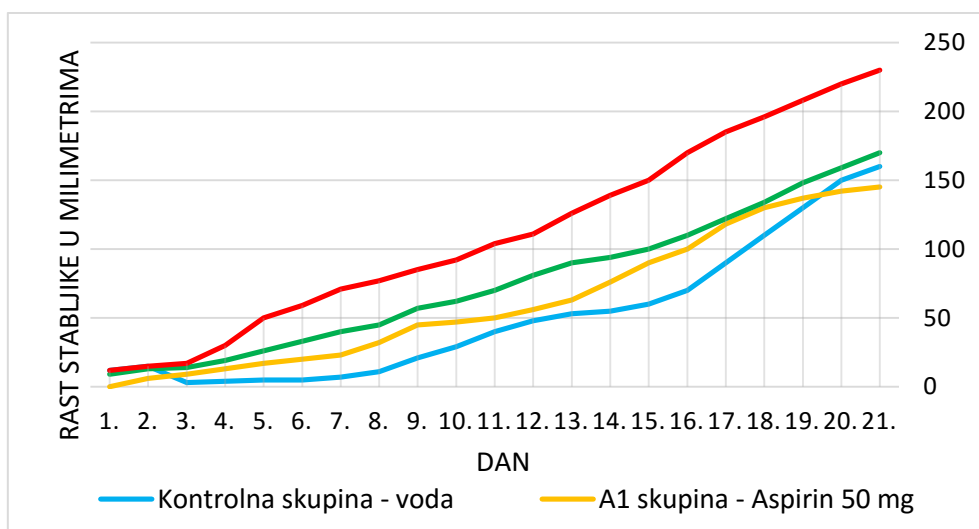
Svi uvjeti (vlaga, temperatura, količina svjetla) bili su jednaki za sve promatrane skupine. Kada je pojedina biljka isključila od tog dana počeli smo pratiti njen dnevni rast i veličinu klice u milimetrima. Tretman se provodio kroz 21 dan.

Dobivene rezultate uvrstili smo u tablice. Jedna tablica za svaku biljnu vrstu bila je namijenjena praćenju klijavosti (zapisivali smo kod koliko i kada je sjemenki od ukupnog broja bila vidljiva klica). Svaka vrsta također je za rast imala vlastitu tablicu koja prikazuje rast u centimetrima od trenutka kad je proklijala. Upisivali smo prosječne vrijednosti rasta stabljike od više sadnica iste skupine. Podaci su upisivani u tablicu od n redova (n = broj dana praćenja rasta) i stupaca za svaku skupinu (4). Usporedili smo podatke po skupinama i napravili pripadajuće grafove.

REZULTATI

Mungo grah

Sve skupine počele su klijati drugog dana. U kontrolnoj skupini proklijalo je 14 sjemenki (70 %). Najviše ih je proklijalo u B skupini (slika 6) - 18 sjemenki (90 %). U A1 skupini proklijalo je najmanje – 12 sjemenki (60 %) i u A2 skupini 17 (85 %). Paralelno smo pratili rast klice/stabljike i prikazali slikom 5. Svakoga dana pokusa, sadnice B skupine mungo graha bile su najviše, a slijede ih sadnice A2 skupine. A1 i kontrolna bile su poprilično izjednačene pred kraj iako je kontrolna skupina dijelom pokusa brže rasla.



Slika 5. – Rast najveće stabljike mungo graha po skupinama

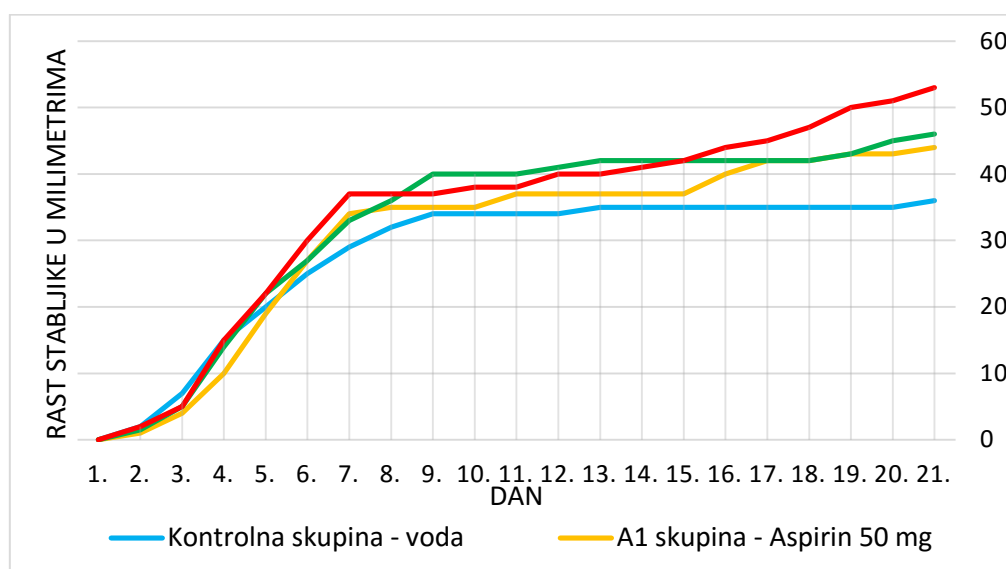


Slika 6. Klijanje mungo graha kontrolne i B skupine 3. dana

Rikola

U B skupini sve su sjemenke proklijale do kraja trećeg dana, u A2 njih 19 (95 %), a u kontrolnoj 15 (75 %). A1 skupina je kao i kod mungo graha najmanje proklijala sa 14 proklijalih sjemenki (70 %).

Podatci o rastu klice, odnosno stabljike prikazani su na slici 7.



Slika 7. – Rast najveće stabljike rikule po skupinama

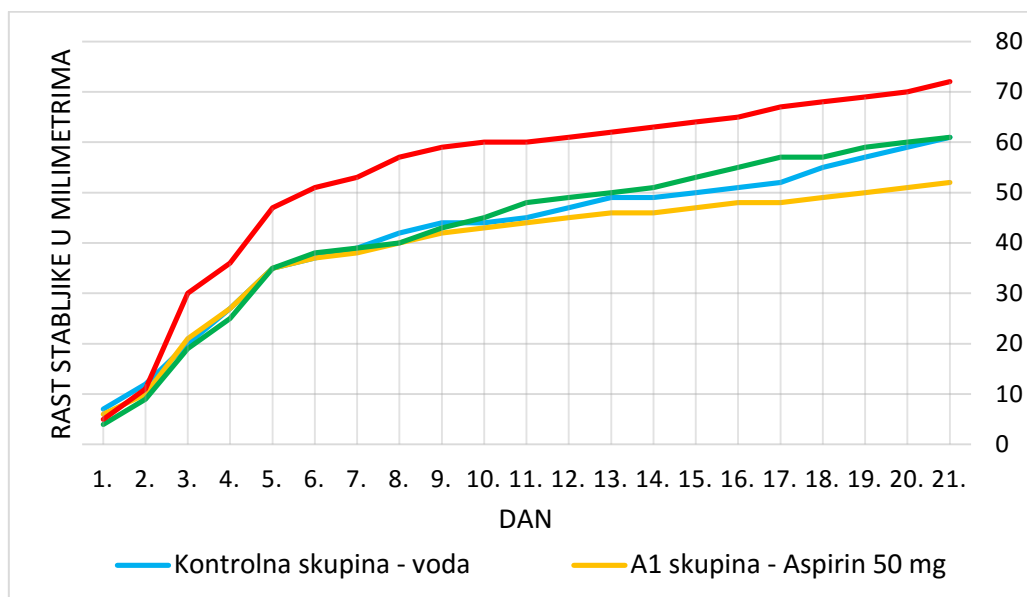
Jasno je vidljivo (slika 7) da su sadnice B skupine najviše, a slijede ih sadnice A2 skupine. Kontrolna ih je pratila dijelom pokusa, a pred sam kraj njen je rast počeo stagnirati. Na slici 8 plavim četverokutom je označena kontrolna, crvenim A1, a zelenim B skupina. A1 skupina je slabije razvijena od kontrolne, B, i A2 skupine iako su svi uvjeti te broj sjemenki u posudicama bili jednaki. Veći broj bočnih ogranaka sadnice kontrolne skupine u odnosu na A1 prikazan je na slici 25. B skupina je nešto manje razgranata od kontrolne, ali je zato viša.



Slika 8. Usporedba sadnica rikule po skupinama

Rotkvica

Sjemenke B skupine su najbrže i brojčano najviše proklijale - 19 (95 %) njih. Druga po broju proklijalih je bila A2 skupina s 17 (85 %), a slijedi je kontrolna sa 14 proklijalih sjemenki (70 %). A1 skupina imala je najmanje proklijalih sjemenki – 12 (60 %).

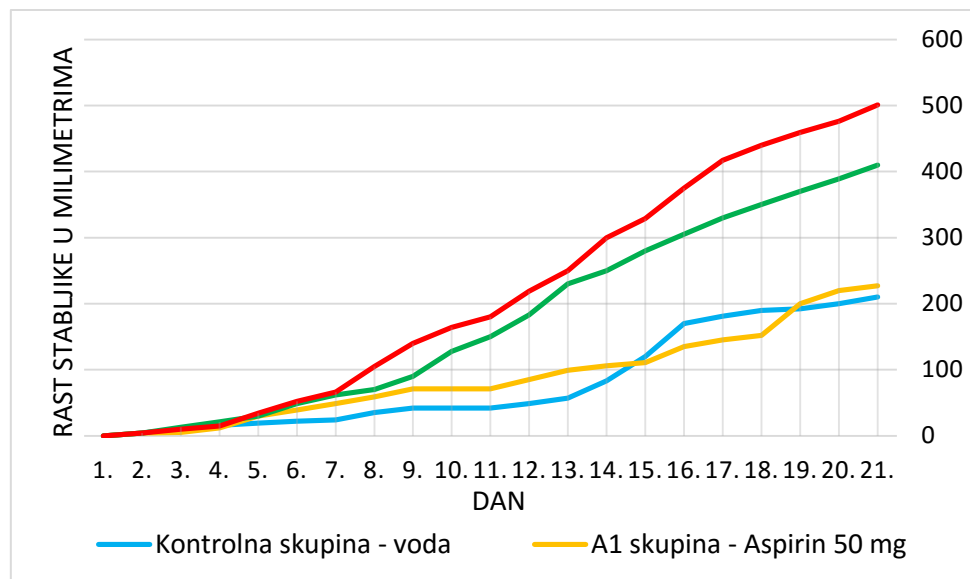


Slika 9. – Rast najveće stabljike rotkvice po skupinama

Kod rotkvice najviše stabljike su u B skupini. Ona je narasla najviše, ali i vremenski najbrže. Kontrolna skupina bila je poprilično izjednačena sa A2 skupinom, a A1 skupina primjetno je niže narasla (slika 9).

Grašak

Kao i kod mungo graha, rikole i rotkvice, B skupina graška najviše je proklijala – 16 sjemenki (80%). Odmah iza B skupine po brojnosti proklijalih sjemenki bila je A2 s 14 proklijalih sjemenki (70 %). U kontrolnoj skupini proklijalo ih je 11 (55 %).

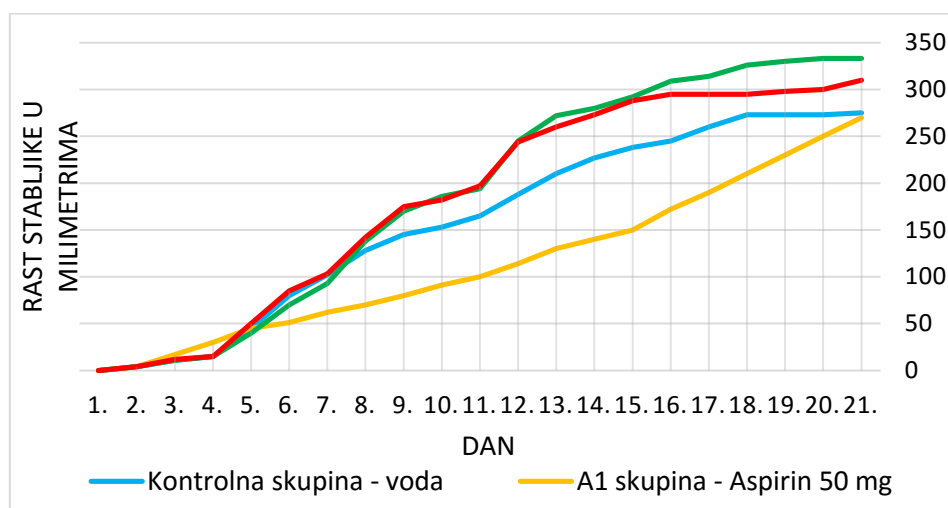


Slika 10. – Rast najveće stabljike graška po skupinama

Sadnice tretirane otopinom salicilne kiseline iz vrbine kore osjetno su višlje od ostalih sadnica, pogotovo u odnosu na kontrolnu skupinu. Do sredine trajanja pokusa slijedile su ih sadnice A2 skupine, no rasle su sporijom brzinom (slika 10).

Pšenica

Sjemenke A2 skupine pšenice izrazito su brzo proklijale - njih 18 (90 %) već drugog dana. Trećeg dana, situacije u B i A2 skupini bile su identične. Obje skupine su imale 19 (95 %) proklijalih sjemenki. U kontrolnoj skupini proklijalo je 16 (80 %), a u A1 15 sjemenki (75 %).



Slika 11. – Rast najveće stabljike pšenice po skupinama

Najviše su narasle sadnice A2 skupine koje su tretirane manjom koncentracijom Aspirina. Do 10. dana pokusa, brzinom rasta vodila je B skupina, no što se pokus bližio kraju A2 skupina rasla je brže od B. Kontrolna skupina je malo višlja od A1, ali su obje prilično niže od A2 i B (slika 11).



U prilogima se nalaze slike koje smo napravili tijekom pokusa, a u raspravi ćemo ih detaljnije opisati. Na njima je jasno vidljivo da su sadnice A2 i B skupine najviše i imaju veći broj izdanaka. Listovi morfološki izgledaju ujednačenije i pravilnije.

RASPRAVA

Smatramo da je naš rad potvrdio postavljene pretpostavke.

Mungo grah najbolje je uspijevaao kada je bio tretiran salicilnom kiselinom iz vrbine kore (B skupina). Razlika je bila vidljiva već u trećem danu klijanja kada je B skupina imala više klica. Kada smo pratili rast, rezultati B skupine bili su osjetno viši od ostalih što je vidljivo na grafikonu. Manje su rasle sadnice A2 i kontrolne, a najmanje A1 skupine. Kada smo presadili sve sadnice mungo graha nakon klijanja u dublje posudice trećeg dana pokusa, sve su sadnice osim kontrolne uspjele odmah krajem dana probiti sloj zemlje i nastavile rasti jednakim ritmom. Kontrolna skupina je do 9. dana pokusa poprilično zaostajala za ostalim skupinama, ali je pred sam kraj tretiranja prestigla A1 čiji rast počinje polako stagnirati i stigla je A2 skupinu. Dvije od šest sadnica iz A1 skupine koje smo pratili nakon tretmana su uginule, a postupno se vidjelo sušenje i promjena u boji listova kroz 21 dan tretmana. Ostale četiri sadnice morfološki su izgledale normalno, kao i sadnice ostalih skupina.

Kod rikole situacija je bila slična. Većim dijelom trajanja pokusa A2 i B skupina podjednako su klijale i rasle no do kraja pokusa rast A2 skupine se usporio, a sadnice B skupine su bile najveće visine. Razlika u rastu među skupinama rikole bila je mala. Smatramo da je uzrok toga činjenica da su sjemenke rikole značajno sitnije od sjemenki mungo graha, graška te pšenice pa ta vrsta općenito niže raste u odnosu na ostale. Skupina (A1) tretirana otopinom s većom koncentracijom Aspirina ima manje izdanaka u odnosu na ostale skupine iako je broj proklijalih sjemenki bio jednak. Tijekom cijelog trajanja pokusa, sadnice rotkvice iz B skupine vodile su rastom i razvojem. Jedinke A2 i kontrolne skupine rasle su jednakom brzinom i dosegle jednaku visinu, a one iz A1 ponovno su najniže.

Na sadnicama graška primijetili smo najveću razliku u rezultatima, jer od svih vrsta, grašak kao vrsta raste najviše. Zbog oplošja, sjemenke graška zahtijevaju više tekućine. Sve smo skupine zalijevali jednakom količinom pripadajuće otopine dnevno, no ta količina je bila veća kod graška nego kod ostalih vrsta. U odnosu na kontrolnu i A1 skupinu, B skupina je dosegla više nego dvostruko veću visinu. A2 skupina je također bila značajno viša u prosjeku od njih, ali opet nešto niža od B skupine na kraju pokusa. Na slici 22. i 23. jasno je vidljivo koliko je stabljika B skupine viša u odnosu na druge.

Pšenica najbolje raste i klija kada se tretira nižom koncentracijom Aspirina (A2), a najlošije s višom koncentracijom (A1). B skupina je ponovno viša od kontrolne, no u početku je brže rasla od svih ostalih skupina pa čak i od A2. Budući da je samo kod pšenice A2 skupina najviša po rastu, možemo zaključiti da joj bolje odgovara otopina od 25 mg, nego otopina iz vrbine kore. Razmišljajući o uzroku takve pojave kod pšenice, koja je jedina jednosupnica od svih korištenih biljnih vrsta, došli smo do ideje da je možda to jedan od razloga. Zbog toga bi u nastavku istraživanja trebalo postaviti više biljaka iz skupine jednosupnica kako bismo to provjerili. Moguće je i da pšenici jednostavno odgovara drugačija koncentracija salicilne kiseline.



Svi naši rezultati jasno pokazuju pozitivan utjecaj salicilne kiseline u malim koncentracijama na rast i klijavost. Veće koncentracije salicilne kiseline u otopini za zalijevanje usporavaju rast i klijanje u odnosu na kontrolu što se podudara s rezultatima drugih istraživanja (ODEC, 2003.) i našom pretpostavkom.

U trenutku pisanja ovog dijela rada, prošlo je više od 10 dana nakon završetka tretmana s različitim otopinama. Sve biljke smo još tjedan dana pratili kako bismo imali više slikovne dokumentacije i nakon toga smo prestali. Listovi A1 skupine su se nekoliko dana prije nego kod ostalih skupina počeli sušiti.

Od 21. dana pokusa sve skupine graška su bile zalijevane vodom kao i kontrolne skupine prije, no 35. dana smo opazili nešto vrlo zanimljivo. Grašak B skupine je jedini dobio cvijet, dok druge skupine još nisu imale ni potpuno razvijen pupoljak. To znači da je indol-3-octena kiselina iz vrbine kore za vrijeme tretmana zaista djelovala na razvoj cvijeta kod graška (Bahatti i Naeem, 2004.).

ZAKLJUČCI

- otopina termički obrađenog ekstrakta vrbine kore sadrži salicilnu kiselinu
- otopine Aspirina i salicilne kiseline imaju učinak na rast i razvoj biljaka
- otopine s koncentracijom Aspirina od 25 miligrama u 0.5 dcL vode i prirodno dobivena salicilna kiselina pospješuju klijavost sjemenki
- sjemenke zalijevane otopinom s većim udjelom Aspirina su proklijale u manjem broju u odnosu na one zalijevane vodovodnom vodom
- otopina prirodno dobivene salicilne kiseline pospješuje i ubrzava rast svih biljnih vrsta korištenih u pokusu
- sadnice rotkvice i pšenice tretirane otopinom s većim udjelom Aspirina slabije su rasle i manje se razvile
- otopina s manjim udjelom Aspirina pospješuje rast u odnosu na vodu, ali manje u odnosu na otopinu prirodne salicilne kiseline (osim kod pšenice)
- veći utjecaj svih otopina salicilne kiseline vidljiv je na mungo grahu i grašku jer narastu do veće visine pa je razlika među skupinama jasnije vidljiva
- vrlo je jednostavno pripremiti otopinu prirodne salicilne kiseline iz vrbine kore koja će pomoći rastu biljaka kod kuće
- acetilsalicilna i salicilna kiselina djeluju pozitivno na rast i klijavost biljaka ukoliko su pravilno dozirane.

LITERATURA

- Afsharypour S, Kazeroony H., Estimation of salicin in barks and leaves of salix species by a tlc-spectrophotometric method, Isfahan University of Medical Sciences Iran, 1994.
<http://daru.tums.ac.ir/index.php/daru/article/viewFile/37/37>
- Anonymous, Faculty of Life Sciences NYMU Taiwan, Auxin, http://www.dls.ym.edu.tw/ol_biology2/ultranet/Auxin.html
 Pristupljeno : 15.2.2015.
- Anonymous, Kupke za sjeme, Mala Eko Sjemenarna, <http://www.malaekosjemenarna.com/kupke-za-sjeme-prije-sjetve/>
 Pristupljeno: 29.1.2015.
- Anonymous, McGill School California, Willow, http://www.cs.mcgill.ca/~rwest/link-suggestion/wpcd_2008-09_augmented/wp/w/Willow.htm Pristupljeno : 15.2.2015.
- Anonymous, Mungo grah, Vegirecept.com, <http://www.vegirecept.com/sastojak/mungo-grah>
 Pristupljeno: 19.12.2014.



- Anonymous, ODEC, Effects of low concentrations of salicylic acid on plant growth,
http://www.odec.ca/projects/2003/mcleo3l/public_html/ Pristupljeno : 18.12.2014.
- Anonymous, Rikula, Sirova Hrana, <http://sirovahrana.hr/clanak/rikula-149> Pristupljeno : 19.12.2014.
- Anonymous, Salicizam, Wikipedia.org, <http://en.wikipedia.org/wiki/Salicylism> Pristupljeno : 19.12.2014.
- Bahatti I., Naeem M., Effect of some growth hormones (GA3, IAA, kinetin) on the morphology and early or delayed initiation on Lens Culinaris Medik., Department of Botany, Government College Jaranwala, Faisalabad Pakistan, 2004.
<http://goo.gl/sWXOAD>
- Courts D., How to make aspirin from a willow tree, Wonders How-to
<http://home-remedies.wonderhowto.com/how-to/make-aspirin-from-willow-tree-0142525/>
 Pristupljeno : 29.1.2014.
- Gil M., Martinez – Merino V., Determination of the free salicylic acid concentration in Aspirin by forming Fe^{+3} complexes, Dto. de Química Aplicada, Universidad Pública de Navarra Spain, 2007.
http://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-I-11.pdf
- Kenstavičienė P., Nenortienė P., Application of high-performance liquid chromatography for research of salicin in bark of different varieties of Salix, Department of Botany, Vilnius Pedagogical University,
<http://medicina.lsmuni.lt/med/0908/0908-08e.htm> Pristupljeno : 31.1.2014.
- Laubert. A, Wecker H., Reversible hearing loss in acute salicylate intoxication, NCBI,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15143764> Pristupljeno : 19.12.2014
- Lindell J., How to identify a White Willow, eHow,
http://www.ehow.com/how_8167835_identify-white-willow.html, Pristupljeno : 29.1.2015.
- Segelken R., Plant gene offers disease control without pesticides, Cornell University,
<http://www.news.cornell.edu/stories/2003/12/plant-gene-offers-disease-control-without-pesticides>
 Pristupljeno : 18.12.2014.
- Zeiger E., Taiz L., 2002. Plant Physiology Third Edition, Sinauer Associates, Inc., Sunderland MA, USA, str. 293 – 306

OD BLATA DO MIKRO SVJETLA

Paula Štancel, 4 razred

XV. gimnazija, Zagreb

Mentor: Mihaela Marceljak Ilić

SAŽETAK

Cilj istraživanja je vidjeti može li se dobiti i kolika je jakosti struje, snaga sustava i količina biogoriva iz Winogradsky stupca u usporedbi sa svježim blatom. Kako bi se potaknuo razvoj bakterija, sediment s jezera se obogatio ugljikom iz novinskog papira i sumporom iz žumanjka. Takav obogaćeni sediment se postavio u plastičnu bocu i još se nalilo malo jezerske vode. Dobiveni sustav naziva se Winogradsky stupac i predstavlja mini ekosustav bakterija u boci. Za nezavisnu varijablu uzet je uzorak odstajalog blata koji je stajao jednako dugo i pod istim uvjetima kao i Winogradsky stupac. Kontrolna skupina bila je svježe blato uzeto tog dana kada su vršena mjerenja. Metoda mjerenja jakosti struje, napona kao i dobivanje vodika provedene su elektrolizom. Mjerenjem jakosti struje i količine vodika služili su za dobivanje zavisne varijable, a napona za kontrolnu vrijednost varijable. Za elektrode su korištene cinkova i bakrova ploča malih dimenzija. Snaga sustava je bila izračunata umnoškom napona i struje. U Winogradsky stupcu u najvećoj su se mjeri razvile purpurne sumporne bakterije, cijanobakterije i alge što se zaključilo prema područjima koja su bila roza i zelena, dok se u ostalim grupama bakterije nisu razvile u toliko vidljivoj mjeri da bi te promjene bile uočene. Najveću vrijednost jakosti struje i snage sustava ima Winogradsky stupac. Napon je kod svih uzoraka bio isti jer on ovisi o elektrodama i abiotičkim čimbenicima poput temperature. Postoje značajne statističke razlike između grupa, osim kod napona što ukazuje da su upravo bakterije zaslužne za veću dobivenu količinu jakosti struje. Volumen plina vodika je također najveći kod Winogradsky stupca i to za 57% volumena kontrolne grupe. Iz toga proizlazi da veći broj bakterija daje veće vrijednosti jakosti struje, snage sustava i veći volumen plina vodika, kako prikazuje Winogradsky stupac. U konačnici, sve dobivene količine mjerenih parametara su u malim vrijednostima, no čak i u tim količinama postoji praktična svakodnevna uporaba takva da je svi mogu prakticirati u svom kućanstvu. Jedna od takvih primjena je pri osvjetljenju u kućanstvu za paljenje LED žarulja.

Cljučne riječi: *jakost struje, snaga sustava, vodik, bakterije, Winogradsky stupac*

UVOD

Biogeokemijski proces definiran je kao pretvorba elementa: sumpora, dušika, fosfora i drugih, koji je kataliziran od biološkog i/ili od kemijskog faktora. Većina biogeokemijskih procesa obuhvaća oksidacijsko-redukcijske reakcije elementa koji se kreću kroz ekosustav i biosferu (Madigan i sur. 2012.). Mikrobiolog Sergei Winogradsky pokazao je kako sumporne bakterije i nitrificirajuće bakterije kataliziraju specifične kemijske transformacije elemenata, tj. sudjeluju u biogeokemijskim procesima. Predložio je važan princip kako te bakterije, koje je on nazvao kemautotrofi, dobivaju energiju, a to je proces oksidacije anorganskih tvari. I još je pokazao kako kemautotrofi dobivaju ugljik iz ugljikova dioksida (Madigan i sur., 2012.) tako što je u staklenu bocu stavio obogaćen sediment sa sumporom i ugljikom što danas nazivamo Winogradsky stupac. U laboratoriju, Winogradsky stupac pokazuje kako metabolička raznolikost mikroorganizama pretvara sumpor u različite redoks oblike pa se tako ekosustav mikroorganizama opskrbljuje energijom i hranjivim tvarima. Kada se bakterije razvijaju, u Winogradsky stupcu nastaju aerobna i anaerobna zona koje dozvoljavaju rast mikroorganizama pod uvjetima kakvi su pronađeni u prirodnim sedimentima i vodama. Na dnu Winogradsky stupca koncentracija klorovodične kiseline je najveća, a koncentracija kisika je najmanja, stoga ovisno o vrsti bakterija i njezinoj toleranciji prema tim različitim koncentracijama, određene bakterije će se nalaziti samo u određenim slojevima. Za samo razumijevanje kakav elektrokemijski potencijal ima ovaj ekosustav za dobivanje čiste energije bitno je poznavati neke od osnovnih procesa i bakterija



zaslužnih za kruženje sumpora. U anaerobnoj zoni nalaze se anaerobni razlagači celuloze, kao što su bakterije roda *Clostridium*, koje razgrađuju celulozu u glukozu i zatim je fermentiraju u jednostavnije organske produkte poput etanola i acetata. Zatim sumpor-reducirajuće bakterije poput roda *Desulfovibrio* te dobivene produkte iskorištavaju u anaerobnom staničnom disanju i reduciraju sulfate u velike količine sumporovodične kiseline (Rogan i sur. 2005.). Taj proces odvija se samo tamo gdje su količine organskog materijala prisutne jer su organski elektronski donatori potrebni za podupiranje sulfatne redukcije (Madigan i sur. 2012.). Zato se obogaćivanjem Winogradsky stupca omogućava stalno odvijanje redukcije sulfata. Iznad anaerobnog sloja nalazi se mikroaerofilan u kojem se nalaze zelene sumporne bakterije *Chlorobium* i purpurne sumporne bakterije roda *Chromatium*. Sumporovodična kiselina potiče razvoj tih bakterija (Madigan i sur. 2012.). Sumporne bakterije odgovorne su za oksidaciju sumporovodične kiseline u elementarni sumpor (Rogan i sur. 2005.). Procesi koje vrše anaerobne fotosintetske bakterije i fotosinteza kod biljaka vrlo su slične. Razlika je samo u tome što anaerobne bakterije koriste sumporovodičnu kiselinu umjesto vode. Daljnja oksidacija sumpora od strane sumpornih bakterija dovodi do nastanka sulfata i vodikovih iona što rezultira nastankom sumporne kiseline (Madigan i sur. 2012.). Još neki od značajnijih mikroorganizama koji se nalaze u Winogradsky stupcu jesu nitrificirajuće bakterije i cijanobakterije. Jedan od ekološki prihvatljivih oblika energije jest biogorivo - plin vodik. Primjer dobivanja takve energije upravo je pomoću bakterija iz Winogradsky stupca. Loss i sur. (2013.) su pokazali kako miješana kultura fotoheterotrofih bakterija iz Winogradsky stupca daje vodik čija vrijednost seže do 143.56 mL/L proizvedenog tijekom deset dana. Neka slična istraživanja također ukazuju na dobivanje takvog biogoriva (Ahmed i sur. 2011.). Još jedan oblik energije koji se dobiva pomoću bakterija je struja. Dobivanje struje i vodika se u novije vrijeme vrši pomoću nove tehnologije MFC (mikroorganizamske gorive ćelije). Osnovna ideja rada MFC-a jest taj da bakterije u anaerobnim uvjetima otpuštaju elektrone na anodu što stvara struju ili se ti elektroni spajaju sa protonima i tvore vodik u nedostatku kisika. MFC se koriste bakterijama iz prirodnih uvjeta kako bi proizvele jakost struje iz različitih molekula kao što su glukozu, etanol, acetat (Rabaey i sur. 2005; Rezaei i sur. 2007; Zuo i sur. 2006; Lovley i Phillips, 1988). Takav način ne primjenjuje se u industriji jer nije ekonomičan, ali bi zato za neke manje kućne upotrebe imao ekonomičnu primjenu.

OBRAZLOŽENJE TEME

Većina današnje energije dobiva se iz fosilnih goriva. Takav je način dobivanja energije štetan jer izgaranjem nepročišćenih fosilnih goriva nastaje ugljikov dioksid i nadražujući plinovi poput sumporova dioksida. Ugljikov dioksid je staklenički plin koji svojim djelovanjem uzrokuje globalno zatopljenje. Ti plinovi kasnije s kapljicama vode tvore kisele kiše koje uzrokuje velika oštećenja okoliša. Opasan su izvor energije termoelektre i nuklearne elektrane jer može doći do radioaktivnih zračenja koja imaju izrazito negativne posljedice zbog kojih dolazi i do smrti organizma. Zbog toga se danas traže nove alternativne metode dobivanja energije. Radi se sve više istraživanja na mikroorganizmima koji mogu biti dobar izvor energije. Najčešće se neka vrsta bakterija izolira i postavi u MFC čime se danas bave znanstvenici NASA-e. Izrada MFC je komplicirana i skupa, te se u ovom istraživanju pronalazi drugačija, puno jednostavnija i ekonomičnija metoda pomoću koje bi se dobili čisti oblici energije. Kao optimalno rješenje za uzorak mikroorganizama korišten je samoodrživi ekosustav Winogradsky stupac pomoću kojega će se na jednostavan način dobiti željena energija. U Winogradsky stupcu energija se dobiva iz biogeokemijskog kruženja sumpora za koje su zaslužne



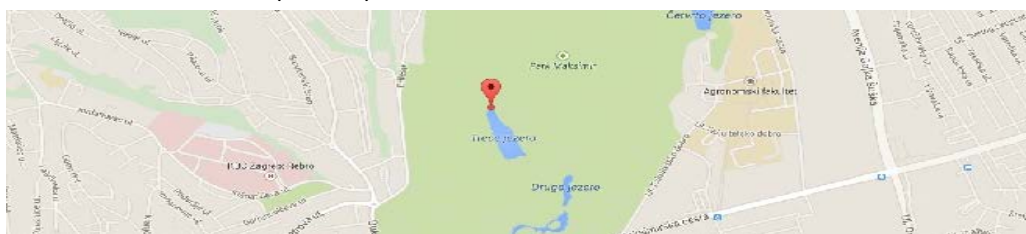
brojne bakterije. U svim metaboličkim procesima raznih bakterija oslobađa se energija u obliku raznih spojeva, kao što su glukoza, sumporovodična kiselina, sumporna kiselina, koji se onda mogu iskoristiti za dobivanje jakosti struje i proizvodnju vodika.

Stoga je cilj istraživanja vidjeti može li se dobiti i kolika je jakosti struje, snaga sustava i količina biogoriva iz Winogradsky stupca u usporedbi s neobogaćenim blatom. Kako bi se to provjerilo, uzete su još dvije skupine za usporedbu s Winogradsky stupcem. Jedna skupina je odstajalo blato koje je bilo držano u istim uvjetima kao i Winogradsky stupac. Druga skupina je svježije blato koje je uzeto tog dana kada su vršena mjerenja i to predstavlja kontrolnu skupinu. Hipoteza je kako će u Winogradsky stupcu, zbog većeg broja razvijenih bakterija, biti veći iznos jakosti struje, snage sustava i volumena vodika, a najmanji za kontrolnu skupinu gdje je najmanji broj razvijenih bakterija. Napon će kod svih grupa biti jednak. Zavisne su varijable jakost struje, snaga sustava i volumen vodika, a nezavisne varijable različiti su uzorci s nejednakim brojem bakterija. Mjerenje napona je kontrolna varijabla kako bi se isključio njegov utjecaj na jakost struje i snagu te da se utvrdi kako je jakost struje samo produkt broja bakterija. Test pokusi pokazuju kako se iz običnog blata u boci koje je odstajalo jednako vrijeme kao i Winogradsky dobije se oko 3 mA struje, a iz Winogradsky stupca oko 8 mA.

MATERIJAL I METODE RADA

Područje istraživanja s kojega su uzeti uzorci

U istraživanju prvi i drugi uzorak uzeti su sa sjeverne strane Trećeg maksimirskog jezera dana 21. rujna 2014. Treći uzorak uzet je 21. prosinca 2014. s iste lokacije. Za uzimanje uzorka korišteni su kanta od 8 L, boca za vodu od 3 L, PVC rukavice, vrtlarska lopata i gumene čizme. Uzeto je ukupno 4,5 L blata na dubini od 50 cm i 2 L vode koje su kasnije raspoređene u plastične boce. Koordinate lokacije su 45°49'36.1"N 16°01'04.1"E (slika 1.).



Slika 1. Treće maksimirsko jezero s kojeg su uzeti uzorci

Metoda rada

Pravljenje Winogradsky stupca

U dvije plastične boce od 0,5 L stavljeno je 300 mL blata i 180 mL vode. U plastičnu bocu od 2 L stavljeno je 1200 mL blata i 120 mL vode. Prije stavljanja blata u prvu bocu, ono je bilo pročišćeno od grančica i kamenja koja su se nalazila u njemu te je zatim obogaćeno s dvama žumanjcima i 5 g novinskog papira. Žumanjak je izvor sumpora, dok je novinski papir izvor ugljika za razvoj bakterija. Boca nije do kraja zatvorena čepom kako bi postojala cirkulacija plinova. Na isti način napravljen je i uzorak odstajalog i svježeg blata, ali bez obogaćivanja. Uzorak svježeg blata uzet je i napravljen 20. prosinca 2014. Vrijeme optimalnog razvoja bakterija u Winogradsky stupcu jest 8 tjedana. Winogradsky stupac i odstajalo blato su napravljeni je 21. rujna 2014. U Winogradsky stupcu i odstajalom blatu omogućeni su uvjeti koji pogoduju bakterijama za rast. Svi uzorci držani su pod temperaturom od 21°C i zaštićeni od izravnog danjeg svjetla trinaest tjedana.



Slika 2. Materijali korišteni za pravljenje uzoraka

Mjerenje struje i napona

Sva mjerenja vršena su 20. prosinca 2014. godine nakon što su Winogradsky stupac i odstajalo blato ukupno odstajali trinaest tjedana. Mjerenje struje vrši se pomoću unimetra. Za katodu se koristi bakrena pločica, a za anodu cinkova pločica, a obje elektrode povezane su univerzalnim mjernim instrumentom. Obje su ploče dimenzija 1,5 cm x 11 cm, a razmak između elektroda jest 3,2 cm. U sve uzorke obje elektrode bile su uronjene na dubinu 5,4 cm od površine vode. Površina svake elektrode u uzorku je 8,1 cm². Elektrode su se postavile u uzorak i pričekalo se 5 sekundi od uranjanja do konačne istovremene očitane vrijednosti za jakost struje i napon. Taj se postupak za svaki uzorak ponovi dvadeset puta. Nakon svake skupine elektrode su bile očišćene brusnim papirom zbog moguće oksidacije pločica.

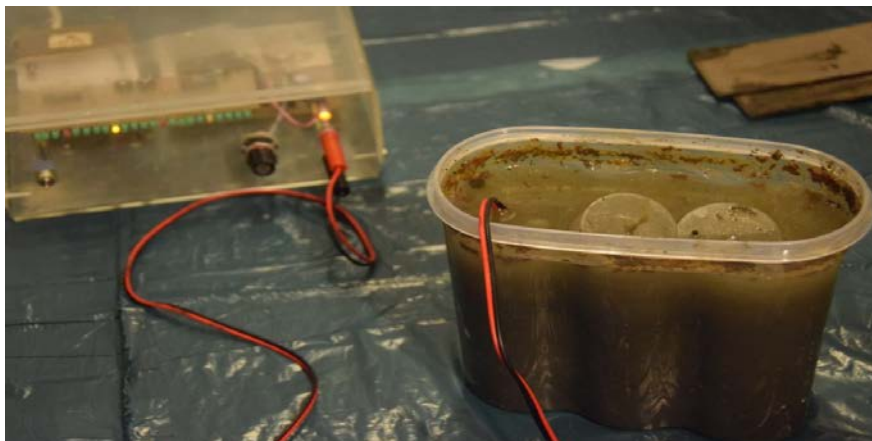


Slika 3. Postavka eksperimenta i mjerenje struje u Winogradsky stupcu

Dobivanje vodika

Dobivanje vodika provedeno je procesom elektrolize. Elektrode su načinjene na isti način kao i elektrode korištene za mjerenje struje. U posudu od 1700 mL najprije su se postavile obje elektrode. Sada njihova površina interakcije sa uzorkom iznosi 16,5 cm² za svaku elektrodu, a razmak između njih je 5,2 cm. Zatim se 1200 mL sedimenta uzorka stavlja u posebnu posudu, kao i 150 mL vode iz istog uzorka. Kako bi se uopće provodila elektroliza potrebno je dodati napon u cijeli sistem. S pomoću ispravljača napona (0V – 24V) dodano je 12 V. Na svaku elektrodu postavljena je čaša volumena 220 mL. U njima će se na katodi oslobađati plin kisik, a na anodi plin vodik. Vrijeme kroz koje će se plinovi proizvoditi jest 5, 10, 15, 20 i 25 minuta za Winogradsky stupac i za svježe blato. Volumen plina kisika nema smisla mjeriti i računati zbog toga što je inače kod elektrolize vode omjer

oslobođenog vodika prema kisiku 2:1, a u ovom eksperimentu omjer je još veći. Mjerene su dvije skupine – Winogradsky stupac i kontrolne skupine (svježeg blata) kako bi se napravila usporedba između tih dviju skupina. Postavljeni eksperiment prikazan je na slici 4.



Slika 4. Dobivanje plina vodika kroz proces elektrolize u Winogradsky stupcu, lijevo je prikazan stabilizator napona

Obrada podataka

Obrada podataka se sastoji od:

- ❖ vizualne analize o razvijenosti bakterija u Winogradsky stupcu. Razvijenost određenih bakterija uočava se u ovisnosti o promjeni boje sedimenta.
- ❖ računanja prosječne vrijednosti jakosti struje, napona i snage sustava u svim uzorcima
- ❖ računanja snage sustava pomoću formule $P=U \cdot I$ za svako pojedino mjerenje; U je napon, a I je jakost struje
- ❖ računanja dobivenog volumena vodika pomoću formule $V=r^2\pi h$. Radijus (r) čaše iznosi 4,3 cm, a metrom je mjerena visina vrha čaše (h), u kojoj se stvara vodik, od razine vode tijekom već prije određenih perioda.
- ❖ linearne regresijske analize dobivenog vodika $Y=bX+a$, gdje je Y najvjerojatniji rezultat zavisne varijable y za određeni rezultat nezavisne varijable X , b je regresijski koeficijent i a odsječak na y -osi.
- ❖ računanja standardne devijacije kod svake skupine podataka gdje su računate prosječne vrijednosti i prikazati ih na grafu

Primjena statističke analize pomoću t -testa ili odbacivanja nulte hipoteze. Nulta hipoteza znači da nema velike statističke razlike između grupa. Prihvatanjem nulte hipoteze prihvaća se da nema statističke razlike, a odbacivanjem nulte hipoteze pokazuje se da postoji značajna statistička razlika između uzoraka. Provjera značajne statističke razlike između parova grupa je provedena na Winogradsky koloni i kontrolnoj grupi, odstajalom blatu i kontrolnoj grupi, te Winogradsky stupcu i odstajalom blatu. Razina signifikantnosti je 0,05 odnosno pouzdanost podataka od 95%. Stupnjevi slobode su 38 te kritična vrijednost za razinu značajnosti od 0,05 jest 1,686. Ako je izračunata vrijednost t veća od kritične vrijednosti, nulta hipoteza se prihvaća, a ako je manja onda se nulta hipoteza odbija. Formula za izračun vrijednosti t prikazana je na slici 5, uz koju je korištena tablica sa stupnjevima slobode.

Sve računske operacije su provedene u Microsoft Excelu 2007.

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}}$$

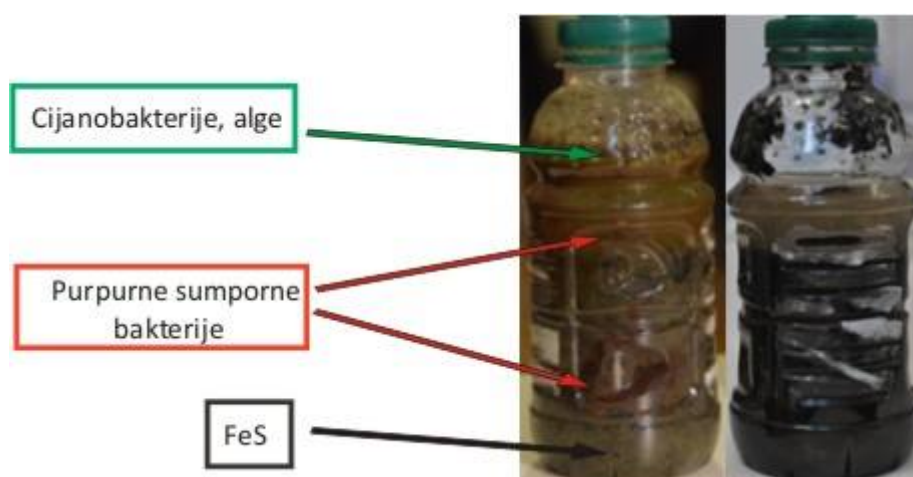
Slika 5. Formula za izračun vrijednosti t

REZULTATI

Razvoj Winogradsky stupca

Kvalitativni rezultati

Razvijene bakterije u Winogradsky stupcu i odstajalom blatu nakon trinaest tjedana i kontrolna skupina – svježi uzeti uzorak (Slika 6.). Na Slici 6. Uočava se crveno područje, područje purpurnih sumpornih bakterija, koje je obuhvatilo veći postotak prekrivenosti kod Winogradsky stupca. Sediment Winogradsky stupca jest svjetliji od kontrolne skupine. Također se vidi na slici 6. na gornjem dijelu boce u vodi nalaze zeleni tragovi alga i cijanobakterija. Razina je vode za 0,8 cm viša u Winogradsky stupcu. Još se i na dnu sedimenta u Winogradsky stupcu uočavaju jako mala crna područja.

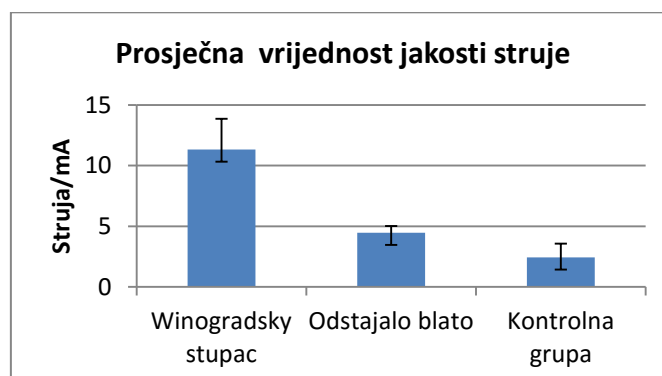


Slika 6. Winogradsky stupac (lijevo) nakon 13 tjedana i kontrolna skupina svježeg blata (desno). Na Winogradsky stupcu su označeni najveći prostori prekrivenosti cijanobakterijama, algama i purpurnim sumpornim bakterijama

Rezultati jakosti struje, napona i snage sustava

Rezultat jakosti struje

U Prilogu 1. su prikazani svi izmjereni podatci za jakost struje. Najveće izmjerene vrijednosti su kod Winogradsky stupca, a najmanje su kod svježeg blata koje je kontrolna skupina. Slika 7. prikazuje grafički prosječne vrijednosti jakosti struje i standardnu devijaciju za sve skupine. Ponovno Winogradsky stupac ima najvišu vrijednost od 11,3 mA, dok kontrolna skupina ima najnižu od 2,44 mA. Najveću varijabilnost u podacima ima Winogradsky stupac. U Tablici 1. kod svih su parova grupa vrijednosti t znatno manje od 0,05 te je razlika statistički značajna što ukazuje da postoji razlika među uzorcima.



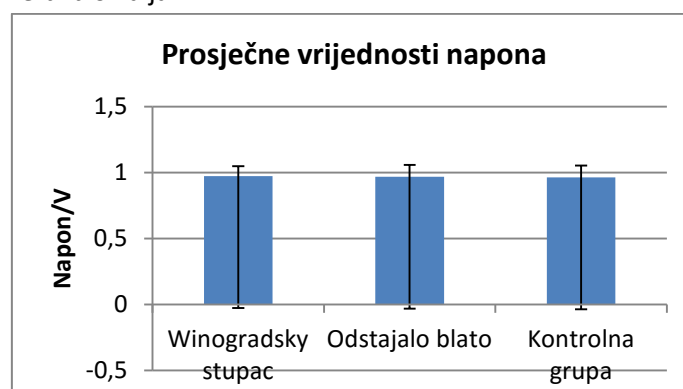
Slika 7. Prosječne vrijednosti jakosti struje sa standardnim devijacijama označenim na stupcima

Tablica 1. Statistički rezultati t-testa kod struje

	Winogradsky stupac i kontrolna grupa	Odstajalo blato i kontrolna grupa	Winogradsky stupac i odstajalo blato
t-test vrijednost	$8,74 \cdot 10^{-17}$	$1,53 \cdot 10^{-8}$	$3,42 \cdot 10^{-14}$
kritična vrijednost	1,686	1,686	1,686
razina značajnosti	0.05	0.05	0.05
rezultat	značajna statistička razlika	značajna statistička razlika	značajna statistička razlika

Rezultati napona

Napon je mjereno sekundu nakon što je izmjerena vrijednost za jakost struje, stoga mjerenje napona broj 1 odgovara istom tom mjerenju jakosti struje pod brojem 1 u Prilogu 1. Vrijednosti predložene u Prilogu 2. slične su, ako ne i skoro identične za sve uzorke. Najveća vrijednost napona je 1,08 V, a najmanja 0,80 V. Na Slici 8. prikazane su prosječne dobivene vrijednosti napona za svaku skupinu te se iz nje vidi kako su prosječne vrijednosti iste, samo što je kontrolna skupina ima 0,96 V, dok preostale dvije imaju 0,97 V. Sve vrijednosti imaju veliku varijabilnost u podacima te su razlike minimalne. Za napon nije napravljen t-test jer je vidljivo iz Slike 9. da nema značajne statističke razlike između skupina. Ovo je i očekivano jer napon predstavlja kontrolnu varijablu te da je rezultat ispao drugačiji pokus ne bi bio valjan.

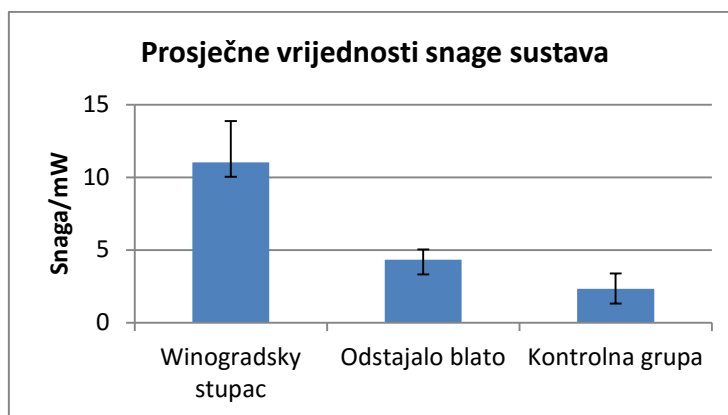


Slika 8. Prosječne vrijednosti napona sa standardnim devijacijama označenim na stupcima

Rezultati snage sustava

Snaga sustava svakog pojedinog mjerenja dobivena je tako da su se za svako pojedino mjerenje kod svake skupine pomnožili jakost struje i napon. Sve dobivene vrijednosti prikazane su u Prilogu 3. Iz

njega se vidi kako je snaga sustava najveća kod Winogradsky stupca i njezina najveća vrijednost iznosi 19,54 mW, a najmanja iznosi 7,23 mW. Kontrolna skupina ima najniže vrijednosti snage sustava. Na Slici 9. prikazane su prosječne dobivene vrijednosti snage sustava kod svih skupina. Winogradsky stupac ima najveću snagu prosječnog iznosa 11,02 mW, zatim odstajalo blato snage sustava 4,33 mW i na kraju svježe blato sa vrijednošću od 2,32 mW. Najveću varijabilnost u podacima ima Winogradsky stupac. U Tablici 2. su kod svih parova grupa vrijednosti t znatno manje od 0,05 te je razlika statistički značajna što ukazuje da postoji razlika među uzorcima.



Slika 9. Prosječna vrijednost snage sustava sa standardnim devijacijama označenim na stupcima

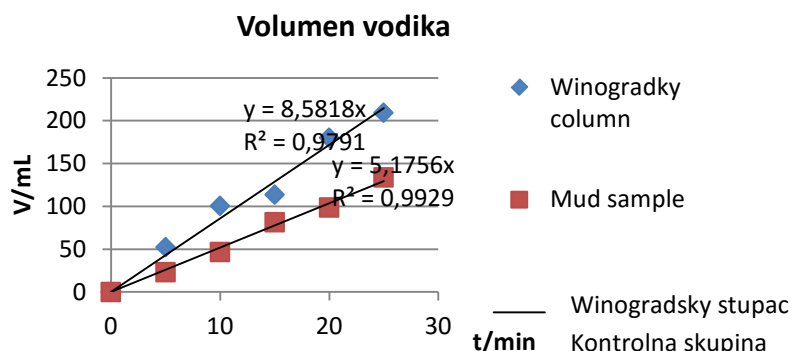
Tablica 2. Statistički rezultati t-testa za snagu

	Winogradsky stupac i kontrolna grupa	Odstajalo blato i kontrolna grupa	Winogradsky stupac i odstajalo blato
t-test vrijednost	$2,32 \cdot 10^{-12}$	$2,77 \cdot 10^{-12}$	$1,85 \cdot 10^{-12}$
kritična vrijednost	1,686	1,686	1,686
razina značajnosti	0,05	0,05	0,05
rezultat	značajna statistička razlika	značajna statistička razlika	značajna statistička razlika

Rezultati dobivenog vodika

Volumen vodika

U Prilogu 4. prikazani su mjereni podatci prema kojima se onda računao volumen. Dobiveni volumen vodika prema formuli $V=r^2\pi h$ tijekom perioda od 5, 10, 15, 20 i 25 min prikazan je na Slici 9. Uočava se kako je dobiveni volumen vodika veći kod Winogradsky stupca, a manji kod kontrolne skupine. Maksimalni dobiveni volumen vodika u 25. minuti za Winogradsky stupac iznosi 209,1 mL, a za kontrolu iznosi 133,6 mL. Dobiveni pravci i jednadžbe regresijskih pravaca su prikazani na Slici 10. Jednadžba regresijskog pravca kod Winogradsky stupca ima veći nagib pravca. Što je nagib pravca veći to je veća brzina nastajanja vodika, a najveći nagib pravca je kod dobivanja vodika kod Winogradsky kolone. R^2 je kvadrat korelacijskog koeficijenta i govori o jačini veze između rasta i utjecaja, što je on bliži broju 1 to je veza jača. To znači da je linearna veza jača između x i y vrijednosti i nema prevelikog odstupanja od dobivenog pravca. Veza je jača kod kontrolne skupine gdje R^2 iznosi 0,992.



Slika 10. Dobivanje volumena vodika tijekom perioda od 25 min

RASPRAVA

U korištenom uzorku Winogradsky stupca većinom se uočava prisutnost crveno-roze boje (Slika 6.) u sedimentu koja ukazuje na razvoj purpurnih bakterija u većoj mjeri nego zelenih sumpornih bakterija. U ostalim grupama nisu uočene te promjene što ukazuje na to da se bakterije nisu razvile u tolikoj mjeri da budu uočljive svojom bojom. No to ne znači da ih nema, nego su se možda razvile u manjoj količini nego u Winogradsky stupcu. Zelene sumporne bakterije inače se nalaze u područjima gdje su veće valne duljine svjetla što je bliže površini vode, a zelene sumporne bakterije smeđe boje se nalaze u dubljim dijelovima (Vila i Abella, 1994.). Stoga je moguće da su se u napravljenom uzorku Winogradsky stupca razvile i zelene sumporne bakterije koje su smeđe boje. Cijanobakterije se nalaze na samoj površini vode i zelene su boje. Crne mrlje uočene na dnu sedimenta (Slika 6.) jesu najvjerojatnije crni željezov (II) sulfid što ukazuje da nastala sumporovodična kiselina od bakterije roda *Desulfovibrio* reagira sa željezom (Rogan i sur. 2005.). Dok ima hranjivih tvari, bakterije će se nastaviti razmnožavati. Ekosustav kao što je Winogradsky stupac može trajati i po nekoliko desetljeća.

U svim vršenim mjerenjima Winogradsky stupac je imao najveće vrijednosti, osim kod napona gdje su vrijednosti skoro identične kod svih grupa. Napon je bio kod svih uzoraka isti jer napon najviše ovisi o materijalu elektroda koje su korištene iako on može ovisiti i o pojedinoj vrsti bakterije, elektrolitu, temperaturi, tlaku, razmaku između elektroda (Prabu i sur., 2012.; Mazloomi i sur., 2012.) i zato ne postoji statistički značajna razlika između skupina. Napon je bio kontrolni parametar i nepostojanje statističke značajne razlike među skupinama ukazuje da su upravo bakterije zaslužne za veće količine jakosti struje kod skupina. Dobiveni rezultati struje, napona i snage sustava pokazuju male vrijednosti što je u skladu sa sličnim istraživanjima provedenim na bakterijama (Deng i sur., 2014.; Prabu i sur., 2012.; Chang 2008.). Rezultati dobiveni iz MFC kada se nalazi jedna vrsta bakterije za jakost struje iznose oko 0,224 mA, a rezultati za napon iznose oko 0,6 V (Arbianti i sur., 2012.). Pritom za Winogradsky kolonu, gdje se nalazi najveća miješana kultura bakterija, prosječna vrijednost jakosti struje je najveća i iznosi 11,3 mA, a prosječna vrijednost napona iznosi 0,97 V što je više nego dobiveno MFC-om. Elektrode su zaslužne za dobivenu struju koja je bila potaknuta količinom raznih anorganskih i organskih spojeva koje su produkt kemiosintetskih bakterija. Mnogi produkti nastaju u metaboličkim procesima raznih bakterija. Prisutnost monosaharida, poput glukoze koja se dobiva fermentacijom celuloze, u sedimentu povećava dobivenu količinu energije (Prabu i sur., 2012.). Količina prisutnih molekula utječe na količinu energije. Kod daljnje oksidacije sumpora, koju provode



purpurne i zelene sumporne bakterije u Winogradsky stupcu, nastaje sulfat (Madigan i sur. 2012.) koji reagira s vodom u napravljenom uzorku i tvori sumpornu kiselinu pomoću koje se dobiva jakost struje. U Winogradsky stupcu koji je obogaćen ugljikom veća je vjerojatnost sinteze različitih monosaharida i drugih spojeva, poput raznih kiselina, od raznih bakterija koji pridonose sveukupnoj povećanoj proizvodnji jakosti struje i snazi sustava. U ostalim skupinama koje nisu bile obogaćene nisu se sintetizirale u toj mjeri spojevi od bakterija te su i dobivene količine jakosti struje malene. Općenito jakost struje s vremenom opada zbog oksidacije elektroda i stvaranja plinova koji smanjuju interakciju bakterija i elektrolita s elektrodama. Kako ne bi došlo do oksidacije anode i kako bi se napon povećao predlaže se korištenje platine ili nehrđajućeg čelika (Prabu i sur., 2012.) time se i povećava jakost struje. Kako bi se još povećala jakost struje predlaže se povećanje površine interakcije anode (Deng i sur., 2014.). Uzimajući u obzir sve navedene parametre povećali bismo ukupnu količinu dobivenih vrijednosti. Snaga sustava je umnožak jakosti struje i napona te je najveća snaga sustava kod Winogradsky stupca. Kako je napon kod svih grupa sličan, snaga sustava je zapravo razlika između jakosti struja. U ovome istraživanju se željela vidjeti početna maksimalna razlika između uzoraka s različitim brojem bakterija, stoga se nije mjerilo opadanje intenziteta struje i snage sustava s vremenom. Taj bi dio istraživanja mogao biti predmet nekog drugog rada. Kada bi se postigao veći napon, a što se i može postići ako se sediment podijeli u više posuda, mogle bi se osvijetliti malene LED diode koje mogu imati praktičnu primjenu kućanstvu.

Winogradsky stupac u ovome je istraživanju pokazala najveći volumen dobivenog vodika. Kako je korištena metoda elektrolize, za poboljšanje ovog eksperimenta ponovno vrijedi svi gore prijašnje navedeni parametri. Korištenjem elektrokemijski aktivnih bakterija koje razgrađuju organsku materiju kombinirane s dodatkom malog napona ($>0,2$ V) u posebnoj dizajniranom ćeliji, može rezultirati visokom proizvodnjom vodika (Logan i sur., 2008.). Bakterije *Clostridium*, purpurne i zelene sumporne bakterija i cijanobakterije, koje se nalaze u većoj količini u Winogradsky koloni, povoljne su za istraživanja u dobivanju bio goriva (Ahmed i sur. 2011.). Dobivena količina u ovom istraživanju mala je zbog kratkog perioda u kojemu se proizvodio vodik i kisik, a i zato što su čašice malenog volumena te se zbog toga ni plinovi nisu mogli proizvoditi duže od 25 minuta. Winogradsky stupac pokazuje najveći volumen vodika koji je veći za 57% volumena kontrolne grupe. Inače miješane kulture bakterija i alga daju puno veće vrijednosti jakosti struje i snage sustava (Prabu i sur., 2012.; Rabaey i sur., 2005.) i time veći volumen vodika. Elektrolizom vodene otopine lako se dobiju vodik i kisik. Dobiveni omjer volumena vodika naprema kisiku jest 2:1. Elektroliza u uzorcima predstavlja elektrolizu same vode i različitih vodenih otopina koje su nastale pomoću produkata bakterija kao što su već prije spomenute sumporna i sumporovodična kiselina. Vodik se stvarao na katodi, a kisik na anodi. Na anodi se oksidiraju molekule vode umjesto aniona oksokiselina i karboksilnih kiselina jer imaju veći oksidacijski potencijal. Inače bi se takav način dobivanja vodika mogao koristiti za čišćenje otpadnih voda. Kako bi se uopće odvila elektroliza bilo je potrebno dodati napon koji je u ovome slučaju iznosio 12 V. U Winogradsky stupcu kao metabolički produkt nekih bakterija nastaje i voda koja također pridonosi stvaranju vodika putem elektrolize, što se također zamijetilo u ovome istraživanju. Stalno se sintetiziraju organski i anorganski spojevi koji mogu biti korišteni za dobivanje vodika dok god postoji neka materija koja omogućava rast bakterijama. Općenito su dobivene količine u MFC-u jako malene, što su pokazali Li i Fang (2008.) da se tijekom perioda od 158 sati uspjela dobiti količina od 225.4 mL vodika, a u ovome istraživanju putem elektrolize se uspjela dobiti znatno veća količina koja iznosi 209,3 mL tijekom 25 minuta. Dobivanje vodika na početku elektrolize



ima linearan rast, a nakon određenog vremena dolazi do saturacije što potvrđuju i druga istraživanja (Li i Fang, 2008.). Zbog toga se pretpostavlja da se u kratkom vremenskom intervalu od 25 minuta vodik dobiva linearno.

Kako bi se još unaprijedilo ovo istraživanje, bilo bi potrebno odrediti mikrobiološkim metodama koje se točno sve bakterije nalaze u Winogradsky stupcu i u običnom blatu. Zatim konstruirati MFC i u njemu odrediti koji su rodovi bakterija, koji se nalaze u uzorcima, zaslužni u najvećoj mjeri za veće vrijednosti mjerenih parametara. I te rezultate usporediti s dobivenom energijom u ovome istraživanju dobivene manje tehnološki naprednijom metodom elektrolize.

ZAKLJUČCI

U Winogradsky stupcu su se razvile bakterije u većem broju za razliku od ostalih grupa kao što je i očekivano.

Winogradsky stupac je dao najveću vrijednost jakosti struje, snage sustava. Za razliku od kontrolne skupine gdje su ti parametri bili najmanji. Općenito, veći broj bakterija daje veće vrijednosti jakosti struje, snage sustava i veći volumen plina vodika.

Napon ne ovisi o broju bakterija te je kod svih uzoraka bio sličan. Što ukazuje da materijal i ostali faktori, poput razmaka između elektroda, nisu utjecali na vrijednost napona, a time i na jakost struje, snagu i volumen vodika, nego da su bakterije zaslužne za veće dobivene količine tih oblika energije kod Winogradsky stupca.

Winogradsky stupac je davao najveći volumen, i to veći za 57% volumena kontrolne grupe.

Elektrolizom sedimenta i vode u kojoj se nalazi mnogo različitih bakterija, kao što je Winogradsky stupac, mogu se dobiti veće vrijednosti jakosti struje, snage sustava i puno veći volumen vodika za razliku od nove tehnologije korištenja MFC-a kroz kraće vrijeme.

Dok postoji organska materija koju bakterije mogu iskoristiti, toliko dugo se može od njih dobivati jakost struje i vodik putem elektrolize.

Dobivene količine jakosti struje i snage sustava su malene, ali u boci od 0,5 L su dovoljno velike kako bi crvena LED-ica svjetlila. Tako Winogradsky stupac s malom količinom sedimenta i bakterija ima ekonomičnu primjenu za dobivanje svjetla u kućanstvu.

ZAHVALA

Autor rada se zahvaljuje Dori Bobovčan i Antoniju Matoševiću na lekturi i profesorici Zrinki Topličan na recenziji „nebiološkog“ dijela rada..

LITERATURA

- Ahmed M.A., Abdel-Monem, Shaieb F.M.A. 2011., Roles of microalgae and bacteria in hydrogen production as one of the renewable energy resources, *Ass. Univ. Bull. Environ. Res.* 14(2):153-173
- Arbianti R., Hermansyah H., Utami T.S., Zahara N.C., Trisnawati I., Kristin E., 2012., The Usage of *Saccharomyces cerevisiae* in Microbial Fuel Cell System for Electricity Energy Production, *J. Chem. Chem. Eng.* 6:814-819
- Chang T.Z., 2008., Kinetics of Waste water Treatment and Electricity Production in a Novel Microbial Fuel Cell, *Journal of the U.S.SJPW* 1:16-31
- Deng H., Wu Y.C., Zhang F., Huang Z.C., Chen Z., Xu H.J., Zhao F., 2014., Factors Affecting the Performance of Single-Chamber Soil Microbial Fuel Cells for Power Generation, *Pedosphere* 24(3):330-338
- Li R.Y., Fang H.H.P., 2008., Hydrogen production characteristics of photoheterotrophic *Rubrivivax gelatinosus* L31, *International journal of hydrogen energy* 33:974-980
- Logan B.E., Call D., Cheng S., Hamelers H.V.M., Sleutels T.H.J.A., Jeremiasse A.W., et al., 2008. Microbial electrolysis cells for high yield hydrogen gas production from organic matter. *Environ Sci Technol*;42:8630–40



- Loss R.A., Fontes M.L., Reginatto V., Vasconcellos Antonio R. 2013. Biohydrogen production by a mixed photoheterotrophic culture obtained from a Winogradsky column prepared from the sediment of a southern Brazilian lagoon, *Renewable Energy*, 50: 648-654
- Lovley DR and Phillips EJP. 1988. Novel mode of microbial energy metabolism: organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron and manganese. *Applied and Environmental Microbiology* 54:1472–1480
- Madigan M.T., Martinko J.M., Stahl D.A., Clark D.P. 2012. Deirdre Espinoza (ur.), *Brock Biology of Microorganisms*, Pearson Education, San Francisco
- Mazloomi K., Sulaiman N.b., Moayed H., 2012. Electrical Efficiency of Electrolytic Hydrogen Production, *International Journal of Electrochemical Science*, 7:3314 – 3326
- Prabu M., Durgadevi M. i sur. 2012., Electricity production from waste water using microbial fuel cell, *Journal of modern biotechnology* 1(1):19-25
- Rabaey K, Clauwaert P, Aelterman P and Verstraete W. 2005. Tubular microbial fuel cell for efficient electricity generation. *Environmental Science and Technology* 39:8077–8082
- Rezaei F, Richard TL, Brennan RA and Logan BE. 2007. Substrate enhanced microbial fuel cells for improved remote power generation from sediment based systems. *Environmental Science and Technology* 41 (11):4053–4058
- Rogan B., Lemke M., Levandowsky M., Gorrell T. 2005. Exploring the Sulfur Nutrient Cycle using the Winogradsky column, *The American Biology Teacher* 67(6):348-356
- Vila X., Abella, C. A. 1994.. Effect of light quality on the physiology and the ecology of planktonic green sulfur bacteria in lakes. *Photosynth Res* 41, 53–65
- Zuo Y., Maness P.C. and Logan B.E., 2006. Electricity production from steam-exploded cornstover biomass. *Energy & Fuels* 20:1716–1721.

UTJECAJ FEROMONA NA KRETANJE MADAGASKARSKOG SIKTAJUĆEG ŽOHARA (*Gromphadorhina portentosa*)

Lujo Matasović, 4. razred
Mavro Matasović, 4. razred

Klasična gimnazija, Zagreb

Mentor: Iva Prgomet

SAŽETAK

U ovome istraživanju proučavali smo utjecaj feromona na donošenje odluka pri kretanju madagaskarskog siktajućeg žohara (*Gromphadorhina portentosa*). Zoološki vrt grada Zagreba poklonio nam je za potrebe eksperimenta 30 zdravih odraslih jedinki madagaskarskog siktajućeg žohara, od kojih je bilo pola mužjaka i pola ženki.

Od spužvaste dječje slagalice, čačkalica i pleksiglasa izradili smo jednostavan labirint s ulazom i kružnim hodnikom. Na jedan kraj labirinta puštali smo jedinke, a na drugom smo postavili motivaciju za kretanje - komad jabuke. Pri izradi labirinta nismo koristili ljepilo niti bilo kakve druge potencijalno toksične ili mirisne materijale.

Žohare smo numerirali i podijelili u dvije grupe. Grupa A sastojala se od 5 mužjaka i 5 ženki. Grupa B sastojala se od 10 mužjaka i 10 ženki te smo na njima provodili mjerenja.

Zagradili smo jednu stranu labirinta te prvo puštali jedinke grupe A u labirint. One su, krećući se isključivo jednom stranom, otpuštale feromone na toj strani. Uklonili smo grupu A iz labirinta, otvorili obje strane i pustili grupu B.

Zamijetili smo da je pri svakom mjerenju veći broj jedinki skrenuo na stranu obilježenu feromonskim tragom grupe A. Time našu pretpostavku da na odluke madagaskarskog siktajućeg žohara pri kretanju doista utječu kemijski spojevi otpušteni od strane jedinki iste vrste, tj. feromoni, smatramo točnom. Također, tijekom mjerenja primijetili smo da mužjaci u prosjeku imaju veću potrebu slijediti ženke, pa smo ponovili mjerenje u kojem se grupa A sastojala isključivo od ženki. U jednom smo slučaju nakon ženki pustili samo mužjake, a u drugom samo ženke. Rezultati su pokazali da u prosjeku više mužjaka slijedi ženke, no raspolagali smo premalim brojem eksperimentalnih organizama, te stoga taj model ponašanja ne možemo smatrati dokazanim. Istraživanje bi trebalo ponoviti s većim brojem žohara, po mogućnosti većim od sto jedinki. Također, u budućim istraživanjima trebalo bi ponoviti eksperiment na različitim vrstama, gdje bi u jednom slučaju jedinke grupe B slijedile trag svoje vrste, a u drugom slučaju druge vrste. Ukoliko bi u drugom slučaju njihov odabir bio sasvim slučajan, dokazalo bi se da različite vrste koriste različite kemijske spojeve pri međusobnoj komunikaciji.

Ključne riječi: *Labirint, zadružni kukci, feromonski trag*

UVOD

Feromoni

Svi organizmi koji žive u zajednicama koriste se različitim oblicima komunikacije kako bi povećali vjerojatnost za opstanak vlastite vrste. Pritom jedna jedinka iz zajednice šalje određenu vrstu signala, poput zvuka, a druga jedinka taj signal prima služeći se pritom različitim osjetilima kojima prima takve podražaje. Ljudi se pri komuniciranju uglavnom oslanjaju na sluh i vid, što je razumljivo s obzirom na slabu razvijenost njuha. Međutim, mnogi organizmi služe se upravo njuhom za međusobnu interakciju pri čemu kemoreceptori, registrirajući tvari otpuštene s drugih jedinki iste vrste, direktno utječu na ponašanje tog organizma.

Pri takvom načinu komunikacije, posebnu ulogu imaju kemijski spojevi koje nazivamo feromonima. Termin „feromon“ dolazi od grčkih riječi *φέρω*: *nosim* i *ὄρμη*: *žudnja, nagon*, a uveli su ga znanstvenici Peter Karlson i Martin Lüscher 1959. godine. To su kemijski spojevi lučeni iz posebnih žlijezda koji se potom ispuštaju u okoliš, a kod drugih jedinki iste vrste izazivaju određen društveni

odgovor, odnosno utječu na ponašanje jedinki u kojih je taj feromon izazvao podražaj. Ti podražaji potom kod jedinke primatelja utječu na autonomni živčani sustav, regulaciju hormona i sl. Takve fiziološke promjene odražavaju se u promjeni ponašanja. Naravno, priroda promjene ovisi o tipu feromona koji ju je izazvao.

Utjecaj feromona osobito je proučavan u životu zadružnih kukaca, čija se razvijena društvena organizacija (poput podjele rada) temelji na njihovoj komunikaciji, za koju su velikim dijelom zaslužni upravo feromoni. Oni utječu na regulaciju sustava zadruga, na ponašanje, sporazumijevanje i aktivnost članova te zadruga (Matonićkin, Habdija, Primc-Habdija 1999.).

Madagaskarski siktajući žohar (*Gromphadorhina portentosa*)

Madagaskarski siktajući žohari (*Gromphadorhina portentosa*), eksperimentalni organizmi korišteni u ovom istraživanju, zadružni su kukci. Prirodno su im stanište tropske šume na Madagaskaru, konkretnije trula debla. Prvi ih je opisao Hermann Rudolph Schaum 1853. godine (sistematska klasifikacija vrste se nalazi u *Tablici 1*). Veličina odraslih jedinki varira između 5 i 8 cm, a težina može doseći i do 24 g, što ih čini jednom od najvećih vrsta iz reda žohara. *Gromphadorhina portentosa* nema krila niti u jednom stadiju svojeg života (za razliku od ostalih žohara), a glasa se ispuhivanjem zraka kroz otvore na zatku čime proizvodi siktajući zvuk. Takav način glasanja nekarakterističan je za kukce koji zvukove uglavnom proizvode trljanjem različitih dijelova tijela (kao npr. cvrčak), no prisutan je u još nekih vrsta osim madagaskarskog siktajućeg žohara (npr. ostale vrste iz roda *Gromphadorhina*). Postoje tri vrste siktaja (siktaj koji upozorava na opasnost, siktaj koji poziva na parenje i siktaj koji mužjaci ispuštaju kada se bore međusobno). Glasanje ovih žohara igra važnu ulogu u komunikaciji među jedinkama, no komunikacija se ne odvija isključivo putem siktanja (već i dodirima i feromonima, na čemu i baziramo ovo istraživanje).

Mužjaci madagaskarskog siktajućeg žohara se razlikuju od ženki po dlakavijim i debljim ticalima te po istaknutijim roščićima na egzoskeletu tik iznad glave (*Slika 1*). Oplođena ženka nosi jajašca u vreći za jajašca (*ootheca*) i u normalnim uvjetima rađa između 20 i 40 nimfi (nezreli žohari) koji su bijele boje i neko vrijeme nakon izlegnuća se drže pored majke koja ih štiti podižući svoje tijelo iznad njih (Cornwell 1968.).



Slika 1 Anatomski razlika između mužjaka i ženke


**UTJECAJ FEROMONA NA KRETANJE MADAGASKARSKOG
SIKTAJUĆEG ŽOHARA (*Gromphadorhina portentosa*)**

 Mentor:
Prgomet I.

Nimfe, koje su morfološki jednake odraslim jedinkama, osim što su bijele i znatno manje, potamne brzo (u roku od jednog dana) i rastu presvlačeći hitinski oklop. Jedinkama treba između 5 i 10 mjeseci da dosegnu zrelost, ovisno o prosječnoj temperaturi u kojoj rastu. Što je toplije, jedinke brže dozrijevaju. Odrasle jedinke nakon dozrijevanja mogu živjeti još 2 do 3 godine. Madagaskarski siktajući žohari hrane se uglavnom biljnom hranom (voće), no po prirodi su svežderi te se mogu hraniti i ostatcima drugih uginulih organizama. Aktivni su noću, a danju se skrivaju, kada su u prirodi u trulim deblima, a kada u zatočeništvu u nastambama napravljenim za skrivanje.

 Tablica 1 Sistematska klasifikacija madagaskarskog siktajućeg žohara (*Gromphadorhina portentosa*)

Carstvo	Animalia (životinje)
Koljeno	Arthropoda (člankonošci)
Razred	Insecta (kukci)
Red	Blattodea (žohari)
Porodica	Blaberidae
Rod	<i>Gromphadorhina</i>
Vrsta	<i>Gromphadorhina portentosa</i>

OBRAZLOŽENJE TEME

Na temelju naših preliminarnih istraživanja, proučene literature te pokusa provedenih izlaganjem organizama u njihovom neprirodnom okruženju, postavili smo pretpostavku da madagaskarski siktajući žohari kao i drugi zadružni kukci pri odabiru puta prednost daju onim putevima kojima su nedavno prošle druge jedinke iste vrste, odnosno onim putevima na kojima je feromonski trag prisutan ili svježiji.

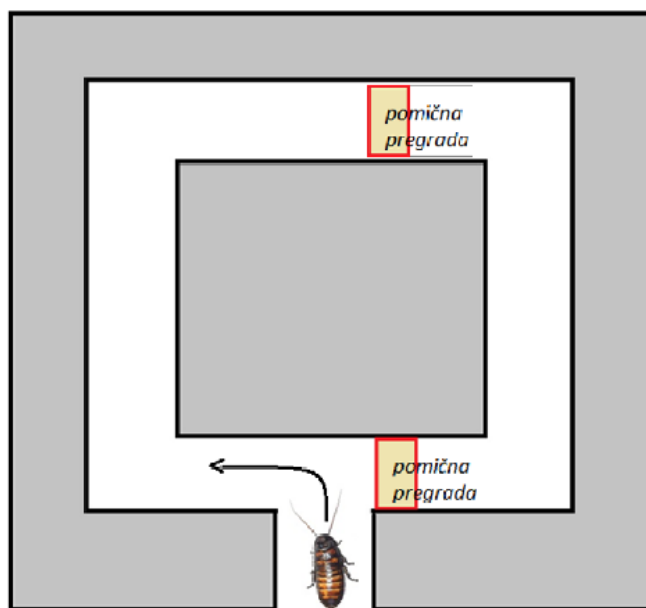
Madagaskarske siktajuće žohare odabrali smo za eksperimentalne organizme iz nekoliko razloga. Popularni su za držanje kao kućni ljubimci jer nemaju miris, ne grizu i nemaju krila. Iz tih smo razloga dobili pristanak roditelja, što nije bilo jednostavno, na uzgoj žohara u našem stanu, koji je bio jedino moguće mjesto u kojem smo mogli obaviti istraživanje, budući da Klasična gimnazija u Zagrebu nije mogla osigurati potrebne uvjete za odvijanje eksperimenta. Uz to, jedinke *G. portentosa* razmjerno su velike za kukce, što nam je znatno olakšalo proučavanje njihovih fizičkih osobina i baratanje njima prilikom istraživanja. Siktajući žohar bio nam je dostupan u Zoološkom vrtu, za razliku od mrava i nekih drugih zadružnih kukaca. Također, zbog jednostavnog održavanja, mogli smo im osigurati sve potrebne uvjete za zdrav i normalan život.

Malu zajednicu siktajućih žohara podijelili smo u dvije grupe te ih potom izolirali u dva terarija pri identičnim stalnim uvjetima. Od netoksičnog materijala koji ne sadrži mirise izradili smo prostor u kojem su se žohari prilikom trajanja pokusa kretali. Prostor ima oblik jednostavnog labirinta kako je prikazano na *Slici 2*. Potreban feromonski trag osigurali smo zatvaranjem jednog prolaza kako bi sve jedinke iz prve grupe morale skretati na istu stranu.

Svoju pretpostavku ispitali smo puštanjem jedne po jedne odrasle jedinke oba spola madagaskarskog siktajućeg žohara iz druge grupe kroz prostor predviđen za kretanje, u kojem smo prethodno otvorili oba prolaza tako da svaka jedinka može odabrati lijevi ili desni put i tako doći do druge strane prostora predviđenog za kretanje. Kao motivator, upotrijebili smo komadić hrane postavljen na drugom kraju labirinta. Valja napomenuti kako je duljina puta do nagrade (odnosno hrane) bila

jednaka, te kako je hranu bilo nemoguće vidjeti iz pozicije u kojoj je trebalo donjeti odluku kojim putem krenuti.

Cilj istraživanja bio je utvrditi hoće li druga grupa žohara (grupa koja donosi odluku na koju će stranu skrenuti) težiti ka skretanju na stranu na koju je prethodna grupa bila forsirana. Budu li donosili odluke po predviđenom uzorku, pretpostavku ćemo smatrati točnom.



Slika 2 Shema labirinta korištenog u pokusu

MATERIJAL I METODE RADA

Materijali

Eksperimentalni organizmi

Za potrebe istraživanja korišteni su zdravi, odrasli madagaskarski siktajući žohari (*Gromphadorhina portentosa*) koje nam je poklonio Zoološki vrt grada Zagreba (Slika 3). Broj jedinki korištenih u pokusu iznosio je 30, od čega je bilo prisutno 15 ženki i 15 mužjaka. Jedinke su uzgajane pri stalnoj temperaturi od 24°C, relativnoj vlažnosti zraka od 60% i podlogom od kokosovog pijeska (Slika 4). Dnevna ishrana sadržavala je ½ jabuke i 10 g Royal canin proteinske pseće hrane.



Slika 3 Odrasle zdrave jedinke madagaskarskih siktajućih žohara (poklonjene od Zoološkog vrta grada Zagreba) u terariju pri stalnim uvjetima



Slika 4 Održavanje eksperimentalnih jedinki pri stalnim uvjetima (prije podjele na grupe)

Instrumenti i pribor

Pri provedbi ovog istraživačkog rada upotrebljeni su instrumenti i pribor, čiji se popis nalazi u *Tablici 2.*

Tablica 2 Instrumenti i pribor korišteni u provedbi pokusa

MATERIJAL KOJI JE OSIGURAO STALNE UVJETE	
Terarij veliki (33 x 21 cm)	1
Terarij mali (20 x 15 cm)	2
Kokosov pijesak	1kg
jabuke	½ dnevno
Proteinska hrana za pse, Royal canin	1 kg, 25 g dnevno
Hidrometar	1
Termometar	1
MATERIJAL ZA IZRADU LABIRINTA	
Dječja slagalica igračka	1 paket od 10 slagalica
Pleksiglas ploča	1
Skalpel	1
Čačkalice	Oko 10
Metar	1
Marker, bijeli	1
Ravnalo	1
Šestar	1
MATERIJAL KORIŠTEN PRI SAMOM EKSPERIMENTU	
Madagaskarski siktajući žohar, jedinke skupine A	10
Madagaskarski siktajući žohar, jedinke skupine B	20
Prethodno izrađen labirint	1
Hidrometar	1
Termometar	1
Pinceta za kukce	1
Papirnati ubrus	1 rola



Rukavice, gumene	2 para
Štoperica	1
Sat	1

Metode rada

Prilagodba eksperimentalnih organizama

Zoološki vrt grada Zagreba nam je za potrebe ovog istraživanja poklonio malu zajednicu od 30 zrelih jedinki *Gromphadorhina portentosa*; od toga su pola činili mužjaci, a pola ženke. U zoološkom vrtu nije ih se naviknulo na interakciju s ljudima, te ih je, prije izvođenja pokusa, valjalo dobro prilagoditi na ljudski dodir i novi prostor.

Osigurali smo im stalne uvjete i u periodu od tjedan dana svakodnevno ih privikavali na dodir, vadeći svaku jedinku iz terarija i puštajući da nam se kreću po rukama dok se upozoravajuće siktanje nije smirilo, te dok se žohar nije osjetio slobodnim kretati. Pri tom postupku nosili smo gumene rukavice. Nakon tjedan dana, eksperimentalne jedinke uglavnom više nisu reagirale na spomenute podražaje.

Priprema eksperimentalnih jedinki

Prije izvođenja pokusa, izdvojili smo dvije grupe žohara, te ih za potrebe istraživanja nazvali grupom A i grupom B.

Grupa A bila je manja od grupe B, te sadržavala 10 odraslih jedinki, od čega je bilo prisutno 5 mužjaka i 5 ženki. Grupu A izolirali smo u manjem plastičnom terariju. Bili su im osigurani uvjeti i ishrana pri kojima su uzgajani.

Grupa B sadržavala je 20 odraslih jedinki (10 mužjaka i 10 ženki). Smjestili smo ih u veći plastični terarij, te im također osigurali identične stalne uvjete kao i pri uzgoju.

Obje grupe numerirali smo svijetlim markerom brojevima od 1 do 30, od kojih prvih 10 tvore grupu A, a jedinke 11 do 30 grupu B. Brojevi su napisani na hitinski oklop iznad vrata, budući da se tamo najteže čiste, te tako nisu bili u mogućnosti sastrugati oznake. Također, mužjaci su imali prednost pri označavanju, kako je prikazano u *Tablici 3*.

Tablica 3 Oznake jedinki s obzirom na grupu i spol

GRUPA	SPOL	BROJ
A	Mušjak	1, 2, 3, 4, 5
A	Ženka	6, 7, 8, 9, 10
B	Mušjak	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20
B	Ženka	21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30

48 sati prije izvođenja pokusa, smanjili smo prehranu (na ¼ jabuke dnevno). Time smo osigurali veću motiviranost traženja izvora hrane prilikom izvođenja pokusa.

Izrada prostora za kretanje

Od polieterske spužvaste dječje slagalice skalpelom smo izrezali jednostavni labirint (*Slika 5*). Tri tako izrezane tanke ploče naslagali smo jednu na drugu i spojili običnim bambusovim čačalicama, kako bi izbjegli ljepljenje čiji bi miris eventualno mogao prigušiti miris feromona. Za podlogu smo

upotrijebili papirnati ubrus, kojeg je po potrebi bilo jednostavno zamijeniti, a služio je za bolje upijanje feromonskog traga. Ukupna širina i duljina labirinta bila je 28.5 cm, a širina i visina prolaza 3 cm. Takvim dimenzijama žoharu je onemogućeno „vrludanje“ i okretanje po labirintu, odnosno primoran je kretati se ravno i donijeti odluku o skretanju.



Slika 5 Izrađeni labirint

Kako bi izbjegli eventualno bježanje žohara iz samog labirinta, na labirint smo stavili ploču od pleksiglasa, pritom pazeći na rupe za zrak.

Prilagodba na prostor za kretanje

Kad je labirint bio spreman za korištenje, žohari su ostavljeni u samom labirintu u skupinama po 4 na 10 minuta, kako bi se prilagodili na novo okruženje, jer, budu li tijekom eksperimenta pod stresom zbog nepoznatog okoliša, rezultat bi mogao biti netočan.

Nakon prilagodbe, žohare smo vratili u terarije, a podlogu labirinta promijenili (papirnati ubrus). Između prilagodbe i eksperimenta pričekali smo 24 sata, kako bi bili sigurni da nikakav feromonski trag nije ostao. Fazu prilagodbe na prostor za kretanje ponovili smo dva puta, jer smo uvidjeli da žohari još uvijek pokazuju znakove nemira (siktanje i nemirno neuravnoteženo kretanje) u labirintu.

Eksperiment

Sam eksperiment izveden je noću, kada je madagaskarski siktajući žohar najaktivniji, u 23:00h i pri sljedećim uvjetima:

- ❖ temperatura od 28°C (pri višoj temperaturi siktajući žohari su aktivniji)
- ❖ približna vlažnost zraka od 60%
- ❖ jednolično prigušeno osvjetljenje, odnosno polumrak, iznad labirinta i terarija; time smo isključili mogućnost da neki žohari skrenu privučeni ili odbijeni izvorom svjetla
- ❖ tišina - stan u kojem smo obavljali eksperiment izuzev nas je bio prazan, a susjedstvo je spavalo u 23 sata.

Spužvicom smo zagrabili desnu stranu labirinta, na cilj stavili komad svježe jabuke i pustili jedinke grupe A kroz labirint. Sve su jedinke grupe A zbog pregrade na desnoj strani labirinta morale proći lijevom stranom i, po našoj pretpostavci, ondje ostaviti feromonski trag. Ostavili smo ih 3 i pol minute



u lijevoj strani labirinta te ih potom vratili u njihov terarij. Kako bismo ubrzali pražnjenja labirinta, maknuli smo pleksiglas-ploču i nježno istresli žohare natrag u terarij.

Zatim smo maknuli spužvastu pregradu koja je priječila prolaz u desnu stranu labirinta i pustili jednu po jednu jedinku grupe B kroz labirint. Pri manevriranju žoharima koristili smo pincetu za kukce i nosili zaštitne rukavice. Pazili smo da vremenski razmak između prolaska posljednje jedinke iz grupe A kroz labirint i prve jedinke iz grupe B bude manji od pola minute (cca. 20 s) kako bismo osigurali da feromonski trag ne ishlapi.

Pretpostavka je bila da će većina jedinki skretati na lijevu stranu pod utjecajem feromonskog traga koji je ostavila grupa A.

U eksperimentu smo koristili štopericu kako bismo mogli maknuti iz podataka jedinke koje su se pokazale neaktivnima, tj. koje se nisu pomaknule više od 20 s. U tom slučaju jedinka je bila maknuta iz labirinta i bila zapisana u posebnoj kategoriji, kao neaktivna jedinka. Nakon što je žohar odabrao stranu i prešao na drugi kraj labirinta do izvora hrane, zapisivao se njegov odabir. Jedinku bi potom maknuli u treći terarij, kako bi se izbjegla nespretnost u brzini rukovanja samim žoharima za vrijeme trajanja eksperimenta, uzrokovana sličnošću žohara, odnosno kako zabunom ne bismo dva puta proveli istog žohara kroz labirint tijekom jednog mjerenja.

Eksperiment se ponavljao ukupno tri puta, u razmacima od 24 sata, s promjenom strana (zagradili smo jedne večeri lijevu, druge desnu, a treće opet lijevu stranu) kako bismo bili sigurni da nije došlo do kondicioniranja.

Željeli smo ispitati i utjecaj feromona na kretanje madagaskarskog žohara uzevši u obzir i spol kukaca. Stoga smo iz grupe A izdvojili ženke (jedinke numerirane brojevima 6, 7, 8, 9 i 10) koje smo potom pustili na jednu stranu labirinta identično kao što smo postupali s cijelom grupom A u prethodnim mjerenjima. Grupu B podijelili smo na mužjake i ženke te napravili još dva zasebna mjerenja. Pri jednom mjerenju puštali smo samo mužjake grupe B kroz labirint, a pri drugom samo ženke. Također, vremenski interval između ova dva mjerenja iznosio je 24 sata, a podlogu od papirnatog ubrusa smo mijenjali između mjerenja.

REZULTATI

Istraživanje u koje su bile uključene sve jedinke smo proveli tri puta. Dva puta je grupa A bila primorana skretati lijevo (prva i treća provedba pokusa), a jednom desno (*Slika 6*). *Tablica 4* pokazuje rezultate provedbi. Postotak izražava brojvni udio jedniki grupe B. Žohari koji su skrenuli sukladno pretpostavci, odabrali su put kojim je bila prisiljena kretati se grupa A, tj. onaj put za koji smatramo da sadrži feromonski trag (*Slika 7* i *Slika 8*). Jedinke koje su skrenule suprotno od pretpostavke su one koje su odabrale put suprotan putu kojim je prošla grupa A.

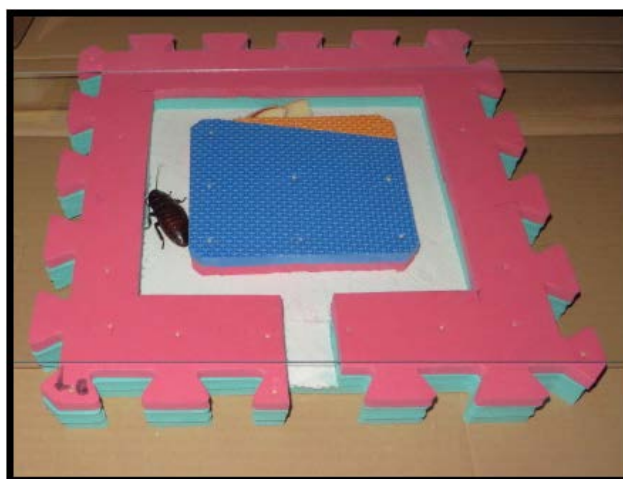
Neke jedinke grupe B morali smo ukloniti zbog neaktivnog ponašanja. Nisu se pomaknule u intervalu od 20 sekundi ili njihov odabir nije bio jasan (skrenule su na jednu stranu, pa se vratile natrag i promijenile odluku i sl.).



Slika 6 Jedinke grupe A obilježavaju jednu stranu labirinta feromonima; druga je strana labirinta ograđena spužvicom

Tablica 4 Omjer donešenih odluka izraženih u postotku i brojnosti prilikom sva tri mjerenja

Redni broj mjerenja	Skrenuli sukladno pretpostavci		Skrenuli suprotno od pretpostavke		Uklonjene jedinke	
	Br. jedinki	%	Br. jedinki	%	Br. jedinki	%
1.	12	60%	4	20%	4	20%
2.	13	65%	6	30%	1	5%
3.	15	75%	4	20%	1	5%

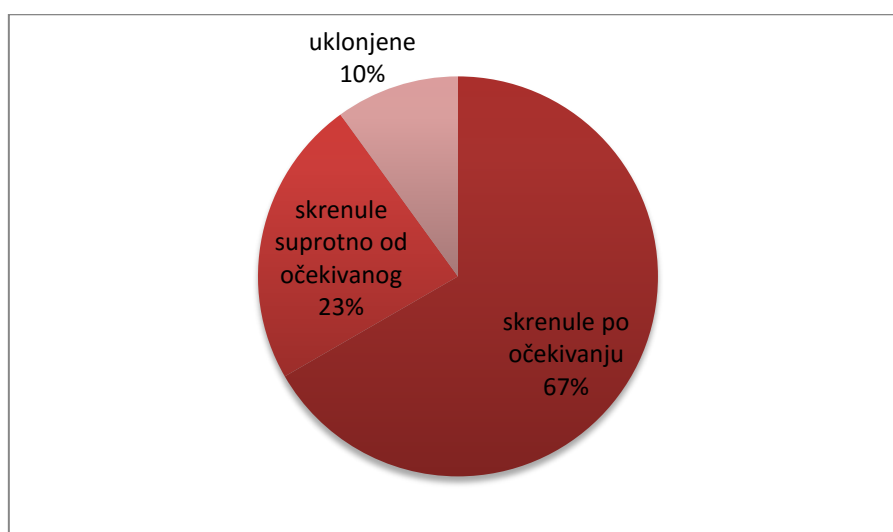


Slika 7 Eksperimentalna jedinka grupe B odabrala je lijevi put te se kreće prema nagradi



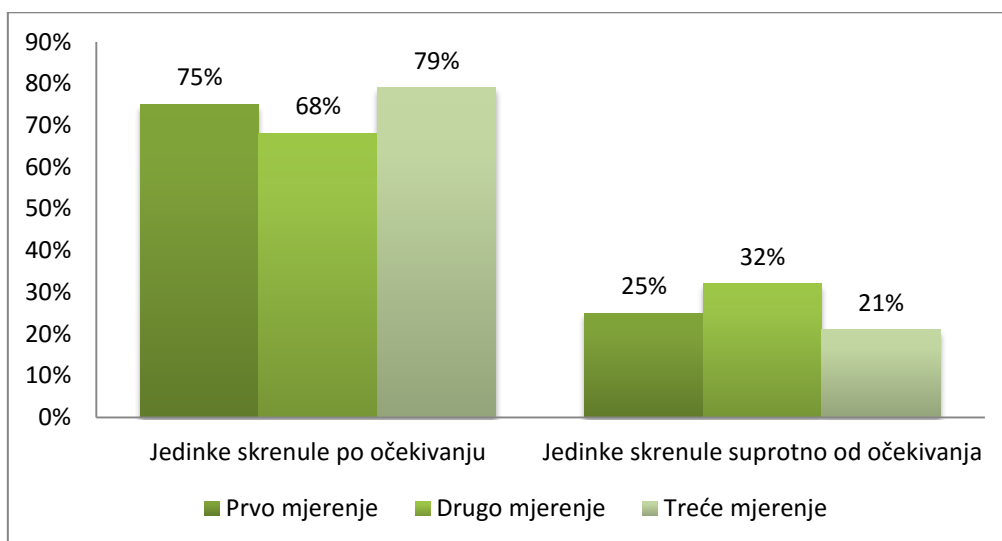
Slika 8 Eksperimentalna jedinka grupe B pronalazi put do nagrade

Slika 3 prikazuje ukupan omjer odluka jedinki grupe B prilikom sva tri mjerenja izražen u postotku. Sto posto jedinki stoga iznosi zbroj jedinki koje su sudjelovale u svakom mjerenju, tj. 60 jedinki.



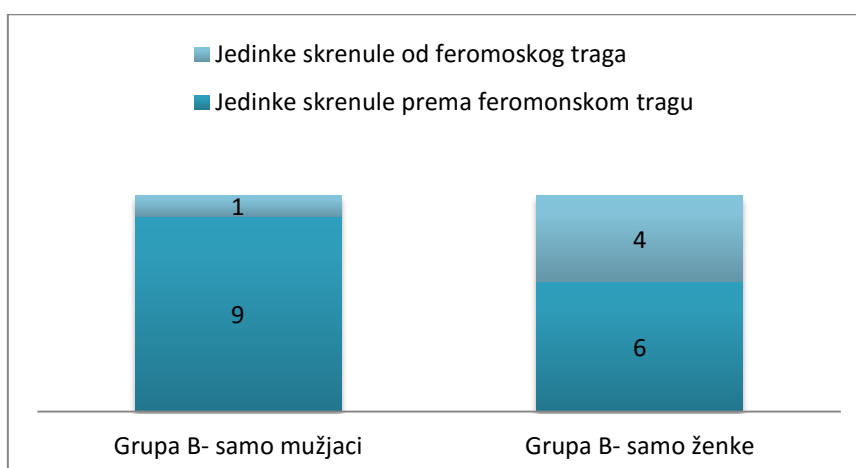
Slika 9 Ukupan omjer odluka pri zbroju sva tri mjerenja

Slika 9 prikazuje omjer jedinki iz grupe B koje su prošle očekivanim putem i jedinki iz grupe B koje su izabrale suprotan put. Uklonjene jedinke su izbačene iz Slike 10. Stoga je ukupan broj jedinki u prvom pokusu 16, a u drugom i trećem 19.



Slika 10 Odluke donesene pri svakom zasebnom mjerenju, izražene u postotku, bez uklonjenih jedinki.

U dodatna dva mjerenja grupu A činile su samo ženke. Kao grupu B, u prvom smo mjerenju pustili samo mužjake, a u drugom samo ženke. Rezultati su prikazani na *Slici 11*.



Slika 11 Rezultat mjerenja u kojima su kontrolnu skupinu (grupu A) činile isključivo ženke

RASPRAVA

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da je veći broj žohara (pri prva 3 mjerenja) obavezno izabirao put koji su prethodno obilježile jedinke iz grupe A. Štoviše, broj žohara koji je izabrao taj put rastao je svakim mjerenjem. Smatramo da je to rezultat postupnog navikavanja žohara na labirint (*Slika 8*) i uvjete u kojima se istraživanje odvijalo. Žohari su, navikavanjem na takvu novu situaciju, bivali sve opušteniji, i feromonski trag grupe A vjerojatno je imao priliku igrati sve veću ulogu pri donošenju odluke. Naime, one jedinke koje su se pri mjerenju osjećale ugroženo u novoj situaciji, a uznemirenost su najjasnije pokazivale siktanjem, ne možemo smatrati objektivnim pokazateljima feromonskog traga. Kad se žohari osjećaju napadnuto, ispuštaju druge vrste feromona i pokazuju alternativne modele ponašanja, što je već dokazano kod drugih vrsta zadržanih kukaca, kao što su mravi ili pčele (Wyatt 2003.).



Znamo da takav porast sigurno nije rezultat klasičnog kondicioniranja (žohari nisu kroz mjerenja naučili skretati uvijek na istu stranu), budući da smo u svakom mjerenju mijenjali put koji će grupa A obilježiti feromonima. Također, mijenjali smo ubrus koji je eventualno upio feromone nakon svakog mjerenja.

Također, pri svakom mjerenju, jedinke koje se nisu ponašale sukladno očekivanjima (tj. skretale su na stranu neobilježenu feromonima, pokušavale su se vratiti ili se uopće nisu micale) redovito su bile one koje smo puštali posljednje. Jedinke obiju grupa u labirint smo puštali nasumičnim redoslijedom, što znači da se nije moglo raditi o istim žoharima.

Moguće je da je veći dio feromona kojeg je ostavila grupa A ipak ishlapio do trenutka kada su posljednje jedinke došle na red. Iako su i jedinke iz grupe B koje su prethodno odabrale „pravi“ put isto obnavljale trag feromona, svejedno je grupa A skupno provela veći dio vremena u labirintu; dakle ostavila jači trag koji je imao vremena ishlapiti do puštanja posljednjih jedinki grupe B u labirint.

Postoji i mogućnost da je jedan žohar iz određenih razloga koje je nemoguće opaziti promatranjem odabrao drugi put nezvezano za feromone, te time ostavio feromonski trag na drugoj strani. Istina, više žohara prije njega prošlo je drugim putem, te time otpustilo veću količinu feromona, no feromonski trag posljednjeg žohara je svježiji te je time mogao zbuniti žohare puštane poslije njega.

Neki žohari svaki su put skrenuli na istu stranu. Tako je mužjak broj 14 svaki put skrenuo desno, a ženke 22 i 28 svaki put lijevo. Zašto je to tako, u našim uvjetima s tako malom zajednicom žohara nemoguće je odrediti; kada smo spomenute jedinke stavili na otvorenu površinu, također su imale tendenciju skretati na istu stranu; štoviše, kretali su se u nepravilnim elipsama upravo zbog konstantnog skretanja na jednu stranu. Provjerili smo radi li se o fiziološkom problemu, poput oštećenih nožica ili trbušne ozlijede i ustanovili da niti jedna jedinka nema vidljiva oštećenja. Također, izuzev stalnog skretanja, nismo primijetili nikakve znakove psihičkih trauma. Pokušali smo ih naviknuti da skreću na drugu stranu, no to nam nije uspjelo (na velikoj ravnoj površini gurali smo ih mekanim kistićem u stranu suprotnu onoj kojoj su težili). Drugi žohari korišteni u eksperimentu nisu pokazivali takav tip ponašanja.

Također, uočili smo kako u labirintu, mužjaci češće od ženki slijede trag koji su ostavile ženke. Stoga smo i osjetili potrebu za provedbom dva dodatna mjerenja u kojem su grupu koja ostavlja feromonski trag (otvoren joj je samo jedan put) činile isključivo ženke (od brojeva 6 do 10). Prva grupa kojoj je bilo slijediti trag sastojala se od mužjaka (brojevi 11-20). Rezultati su pokazali da je 9 od 10 mužjaka slijedilo feromonski trag. Kad smo eksperimentalnoj grupi ženki dali da slijedi trag feromona kojeg je ostavila druga grupa ženki, svega ga je 6 od 10 slijedilo (*vidi Sliku 5*). Iako je tim mjerenjem bilo nemoguće dokazati novi oblik ponašanja zavisao o feromonima vezanim za spol zbog premalog broja jedinki za vjernu statističku analizu, ono ipak upućuje na različito ponašanje madagaskarskih žohara s obzirom na spol. Naime, poznato je da se ženke siktajućeg žohara ponekad znaju poprskati afrodizijakom kako bi privukle mužjaka. Takvi feromoni privlače isključivo suprotan spol, dok ne izazivaju nikakvu reakciju na istom spolu. Ukoliko je koja od ženki izlučila malu količinu takvog afrodizijaka, to je moglo rezultirati razlikom u slijeđenju traga koju smo posljednjim mjerenjima dobili.



Glavni nedostatak našeg istraživanja nesumnjivo je činjenica da smo od Zoološkog vrta uspjeli dobiti premalen broj jedinki za ispravnu statističku analizu, na kojoj se i temelji zaključak eksperimenta. Stoga smo ponovili mjerenje više puta kako bismo što više smanjili element slučajnosti. Iako je u svakom mjerenju prevladavao broj jedinki koje su slijedile trag grupe A, zbog teško ostvarenih laboratorijskih uvjeta, neke smo jedinke morali izbaciti, jer zbog raznih čimbenika nisu bile u stanju sudjelovati u eksperimentu, što je dodatno narušilo proučavani model ponašanja. Također, od Zoološkog smo vrta nabavili odrasle jedinke, koje su zasigurno odrastale u različitim uvjetima i samo približno bile jednake starosti.

Eksperiment bi trebalo ponoviti s mlađom populacijom madagaskarskih siktajućih žohara, čiji bi se razvoj od rođenja kontrolirao u identičnim uvjetima. Također, populacija bi sigurno trebala sadržavati više od 100 organizama.

U budućim istraživanjima bilo bi dobro ponoviti eksperiment na više različitih životinjskih vrsta, gdje bi u jednom slučaju grupa zadužena za ostavljanje feromonskog traga bila iste vrste kao i grupa koja donosi odluku u kretanju, a u drugom slučaju bi se radilo o različitim životinjskim vrstama. Ukoliko bi pri mjerenjima u kojima sudjeluju različite vrste bilo nemoguće uočiti neki uzorak ponašanja, tj. ako bi jedinke grupe B skretale potpuno slučajnim odabirom, to bismo mogli smatrati dodatnim dokazom za utjecaj feromona na odlučivanje pojedinih životinjskih vrsta te, štoviše, kako se različite vrste doista služe različitim kemijskim spojevima pri međusobnoj interakciji.

ZAKLJUČCI

Iz mjerenja je vidljivo da većina žohara, bez obzira radi li se o lijevoj ili desnoj strani, u prosjeku prepoznaje kojom je stranom prethodno prošla skupina njihove vrste te ima tendenciju krenuti istim putem. Iz toga možemo zaključiti da ih privlači trag koji je ostao za prethodnicima iste vrste. Takav trag može biti jedino kemijske prirode, a budući da djeluje izvan tijela proizvođača na druge pripadnike iste vrste, on stoga odgovara definiciji feromona.

Iako nas je promatranje eksperimentalnih jedinki prilikom provođenja istraživanja navelo na pretpostavke o novim modelima ponašanja, njih nismo uspjeli dokazati zbog nedostatnog broja jedinki.

LITERATURA

- Stephen W. Bullington. The Hissing Cockroach, *Gromphadorhina portentosa* (Schaum)
URL: http://users.usachoice.net/~swb/pet_arthropod/hiss.htm
- Wilson, Edward O. 1971. The Insect Societies. Cambridge. Massachusetts: Belknap Press of Harvard University Press.
- Chemical Ecology: Pheromones and other semiochemicals
URL: http://www.cals.ncsu.edu/entomology/schal_lab/ChemicalEcology
- Tristram D. Wyatt. 2003. Pheromones and Animal Behaviour: Communication by Smell and Taste. Cambridge University Press
- Marko Čupić, 2012. Prirodom inspirirani optimizacijski algoritmi. Metaheuristike
- Lisa Darmo, Ph.D., and Fran Ludwig. Madagascan Giant Hissing Roaches Genetics/Living Zoology Department, Carolina Biological Supply Company and Lexington Public Schools, Lexington, Massachusetts 02173
URL: <http://www.accessexcellence.org/RC/CT/roach.php>
- Cornwell, P.B. 1968. The Cockroach (Volume 1): A Laboratory Insect and an Industrial Pest. Hutchinson & Company, London.
- Matoničkin Ivo, Habdija Ivan, Primc-Habdija Biserka. 1999. Beskralješnjaci: Biologija viših avertebrata. Školska knjiga, Zagreb

UTJECAJI ONEČIŠĆENJA METALIMA NA VARIJETETE VRSTE *PHASEOLUS VULGARIS* L.

Šumonja Iva, četvrti razred (4.pg)

Prirodoslovna i grafička škola Rijeka, Rijeka

Mentor: Gotlibović Goran

SAŽETAK

Cilj ovog istraživačkog rada je bio istražiti utjecaj nikla i olova na intenzitet primarnih reakcija fotosinteze te na fenotipska obilježja varijeteta vrste *Phaseolus vulgaris* L. svrstanih u tri skupine (A - grah trešnjevac, B - bijeli grah te C – crveni grah). Za tretiranje istih pripremljene su tri otopine dvaju metalnih iona (Pb^{2+} , Ni^{2+}) množinskih koncentracija 10, 20 i 30 mmoldm⁻³. Svaku skupinu čini sedam uzoraka s dvije jedinke graha od čega je jedan uzorak kontrolni. Tri uzorka u seriji tretirana su otopinama iona nikla pripadajuće množinske koncentracije, a tri su tretirana otopinama iona olova (V=10 mL) u trajanju od pet dana. Kontrolne jedinke tretirane su jednakim volumenima vode. Za svaki se uzorak Hillovom reakcijom određuje intenzitet primarnih reakcija fotosinteze. U čaši se usitne listovi te im se doda ohlađena izolacijska otopina. Pripremljeni uzorak se filtrira, a filtrat se prikuplja u ohlađene kivete te se centrifugira na 5000 rpm deset minuta. Supernatant se ukloni, a talogu se dodaje stabilizacijska otopina. Uzorke za određivanje apsorbancije pripremi se odmjeravanjem 1 mL DCPIP (2,6-diklorofenol-indofenol) reagensa, 1 mL fosfatnog pufera (pH=7,0) te 1 mL uzorka izoliranih kloroplasta. Za svaki uzorak odrade se tri mjerenja apsorbancije pri valnoj duljini 580 nm u intervalima 0, 1, 3, 5, 7 i 9 minuta nakon dodavanja uzorka. Između svakog očitavanja apsorbancije uzorak se izloži intenzivnoj svjetlosti na prozorskoj dasci.

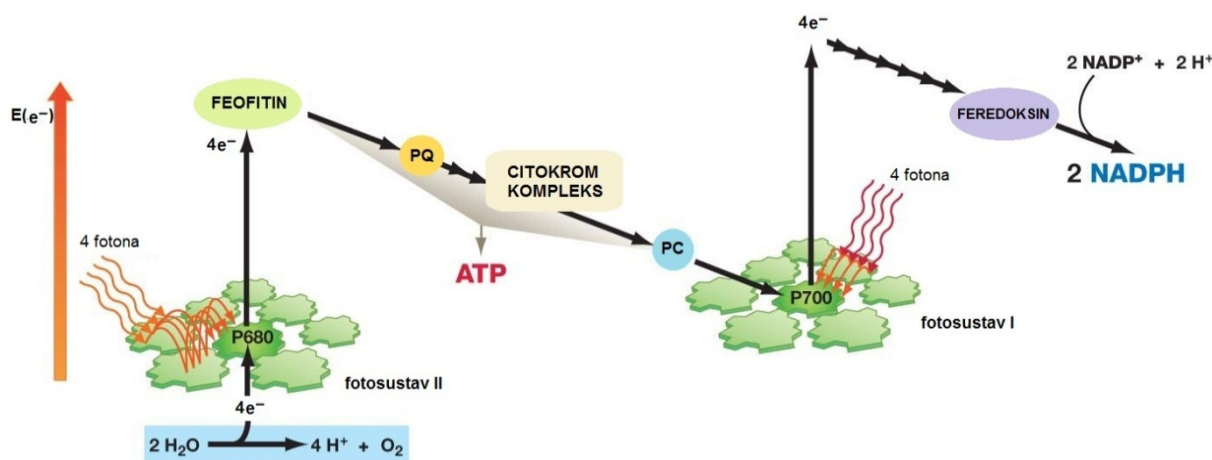
Utvrđeno je da je smanjenje intenziteta primarnih reakcija fotosinteze proporcionalno povećanju koncentracije olova i nikla, pri čemu nikal ima štetniji utjecaj. Uočljivo je da grah trešnjevac posjeduje određenu otpornost na onečišćenje olovom pa postoji potencijal za primjenu u fitoremedijaciji tla (pročišćavanju tla pomoću biljnih organizama). Promjene u fenotipu obuhvaćale su klorozu (gubitak klorofila), varijacije u boji listova te pojavu rupica i izbočenja u lisnom tkivu. Nije uočena povezanost intenziteta navedenih promjena s povećanjem koncentracije metala u zemlji. Istraživanje nije bilo moguće provesti za serije B i C zbog loše klijavosti sjemenki.

Ključne riječi: grah trešnjevac, nikal, olovo, Hillova reakcija, primarne reakcije fotosinteze, apsorbancija, fitoremedijacija

UVOD

Obični grah (*Phaseolus vulgaris* L.) jedna je od najzastupljenijih vrsta koje se uzgajaju u poljoprivredi te je upravo to razlog dostupnosti velikog broja njegovih varijeteta. Varijeteti navedene vrste koji će biti korišteni u istraživanju su grah trešnjevac, crveni te bijeli grah. Svi varijeteti običnoga graha su C3-biljke tj. biljke koje ugljikov(IV) oksid vežu izravno u Calvinov ciklus pri čemu je prvi stabilni spoj koji nastaje šećer s tri C-atoma iz kojeg se dalje sintetizira glukoza kao primarni produkt fotosinteze (Lukša i Mikulić, 2009.). Fotosinteza je biološki najvažniji proces na Zemlji. Tim procesom se, djelovanjem Sunčeve energije, iz anorganske tvari sintetiziraju organski spojevi o kojima su ovisni svi heterotrofni organizmi. Reakcije fotosinteze se odvijaju u dva stupnja. Prvi stupanj čine svjetlosne reakcije u kojima se Sunčeva energija pretvara u kemijsku energiju pohranjenu u NADPH-u i ATP-u (prilog 1). Drugi stupanj ili Calvinov ciklus podrazumijeva redukciju ugljikova(IV) oksida te sintezu ugljikohidrata uz upotrebu spojeva nastalih u prvom stupnju fotosinteze.

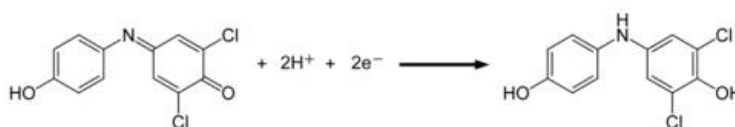
Glavni fotosintetski organi biljaka su listovi koji u stanicama mezofila imaju mnogo kloroplasta koji u tilakoidnim membranama sadržavaju klorofil. Uloga klorofila je apsorbirati svjetlost u crvenom i modrom dijelu spektra (Pevalek-Kozlina, 2011.), potrebnu za početak procesa fotosinteze.



Prilog 1 – Shematski prikaz primarnih reakcija fotosinteze (prilagođeno prema Pevalek-Kozlina, 2003.)

Nikal i olovo su metali koji u manjim količinama nisu toksični, no zbog sklonosti akumulaciji u tlu, gdje najvećim dijelom dopijevaju antropogenim djelovanjem, toksičnost im se povećava proporcionalno s povećanjem koncentracije u tlu. Nadalje, povećane koncentracije takvih metala u tlu snažno utječu na rast i razvoj biljaka te na homeostazu biljnog organizma i stanične procese. Uključivanje metala poput olova i nikla u metabolizam biljaka uzrokuje promjene specifičnih metaboličkih putova, poput procesa sinteze organske tvari (Lisjak i sur., 2008.). Također je moguća i akumulacija istih u vegetativnim organima biljaka. Toksičnost različitih metala za proces fotosinteze uglavnom je povezana sa strukturnim i funkcionalnim promjenama fotosintetskog aparata biljke (Aggarwal i sur., 2012.). Upravo će iz tog razloga štetnost olova i nikla biti ispitana putem njihovog utjecaja na intenzitet fotosinteze.

Robin Hill je svojim eksperimentom potvrdio zaključke C.B. van Niela te je dokazao da se svjetlosna energija može koristiti za generiranje redukcijske sposobnosti u suspenziji izoliranih kloroplasta. Pri tome, umjesto molekula NADP^+ , kao elektron akceptori mogu poslužiti molekule 2,6-diklorofenol-indofenola (Walker, 2002.). Elektroni koji se transportiraju tijekom primarnih reakcija fotosinteze reduciraju 2,6-diklorofenol-indofenol pri čemu plava obojenost otopine postupno blijedi proporcionalno brojnosti prenešenih elektrona. Konačni porast propusnosti za određenu valnu duljinu svjetlosti može se odrediti kolorimetrijskim metodama određivanjem apsorbancije.



Slika 1 – Strukturni prikaz reduciranja 2,6-diklorofenol-indofenola

Inhibicija rasta biljaka i smanjenje produktivnosti usjeva zbog suviška teških metala (poput Cu, Cd, Zn, Ni) u tlu globalni su problemi poljoprivrede (Wang i sur., 2004.) te se upravo zbog toga na ovom području provode intenzivna istraživanja. Ipak, istraživanja utjecaja metala na metabolizam viših



biljaka nisu opsežna i rijetko se bave staničnim procesima biljke u svrhu objašnjavanja dobivenih rezultata. Pretpostavlja se da olovo može inhibirati sintezu klorofila onemogućavajući unos i iskorištavanje esencijalnih elemenata za njegovu sintezu (Piotrowska i sur., 2009.). Prema Aggarwalu i sur. (2012.) metali oštećuju membranski sustav kloroplasta te ometaju procese transporta elektrona. U skladu s time, Aggarwal i sur. (2012.) zaključuju da prekomjerna koncentracija metala štetno utječe na metabolizam biljke, osobito na proces fotosinteze. Ovaj štetni učinak metala na proces fotosinteze potvrđuju i Yang i sur. (2004.) zaključkom da pojedini metali, među kojima je i olovo, u milimolarnim koncentracijama djelomično inhibiraju otvaranje i zatvaranje puči na svjetlu ili u tami.

OBRAZLOŽENJE TEME

Za istraživanje su, kao predstavnici viših biljaka, odabrani upravo varijeteti običnoga graha jer ih je lako uzgojiti i svi varijeteti imaju jednak broj kromosoma ($2n=22$). Zbog velikog broja fenotipskih obilježja koja se mogu uspoređivati tijekom istraživanja, može se pratiti odgovor na promjene u okolišu. U istraživanju će biti obuhvaćene tri različite množinske koncentracije otopina s ionima nikla (Ni^{2+}) i olova (Pb^{2+}) kako bi se preciznije istražio utjecaj njihove množinske koncentracije u zemlji na biljke u istraživanju. Navedeni metali su odabrani jer su jedni od najčešćih na kontaminiranim područjima. Olovo u tla može dospjeti atmosferskim zagađenjem i obaranjem oborina na tlo ili putem ispusta otpadnih voda, dok nikel u tlo može dospjeti kao posljedica istjecanja iz baterija koje ga sadrže ili spaljivanja otpada. Oba metala u tlo mogu dospjeti sagorijevanjem fosilnih goriva (Lagerweff i Specht, 1970.).

Cilj ovog istraživačkog rada je istražiti kako metali (nikal i olovo) utječu na intenzitet fotosinteze, ali i na fenotipska obilježja te rast i razvoj varijeteta vrste *Phaseolus vulgaris* L. poznatije pod nazivom obični grah. Ovo istraživanje će također dati i uvid u moguće specifičnosti metabolizma vrste *Phaseolus vulgaris* L. Još jedan cilj istraživanja je i šira primjena dobivenih rezultata u okviru ekoloških djelatnosti. Ovaj istraživački rad bavi se utjecajem onečišćenja metalima na metabolizam biljaka upravo zato što je onečišćenje okoliša veliki problem današnjice. Kako bi se ovo polje znanosti uspješno dalje razvijalo, potrebno je obaviti opsežna istraživanja koja će dati detaljniji uvid u utjecaje na metabolizam biljaka. Naime, potencijal velikog broja vrsta biljaka za korištenje u svrhu fitoremedijacije još uvijek je nedovoljno istražen i upravo to je još jedan od razloga za provedbu ovog istraživanja.

U središtu istraživanja su upravo biljke jer su prva razina hranidbenog lanca kao proizvođači, što znači da postoji značajna opasnost biomagnifikacije štetnih tvari koje, jednom kad su prehranom unesene u organizam, mogu uzrokovati brojne zdravstvene poteškoće i poremećaje. Osim što su vrlo značajni potrošačima, ali i korisni za daljnja agronomska istraživanja, podatci dobiveni ovim istraživanjem za cilj imaju i podizanje svijesti općenito o opasnostima onečišćenja i utjecajima na biljni organizam.



Neovisne varijable u istraživanju su različite množinske koncentracije vodenih otopina koje sadrže ione odabranih metala, dok su ovisne varijable intenzitet fotosinteze i promjene u fenotipskim obilježjima biljaka. Konačno, kontrolirane varijable u istraživanju su količina i intenzitet svjetlosti, temperatura kojoj su biljke izložene tijekom istraživanja, volumen zemlje u kojoj su biljke uzgajane te volumen vodovodne vode i vodenih otopina metalnih iona kojima će biljke biti tretirane. Vodeći se do sada poznatim činjenicama o štetnosti i utjecajima metala na više biljke, postavljene su sljedeće početne hipoteze istraživanja:

1. Ioni nikla pri niskim koncentracijama u tlu nisu štetni za biljku.
2. Smanjenje intenziteta fotosinteze je upravo proporcionalno povećanju koncentracije iona nikla i olova u tlu.
3. Djelovanje iona olova je štetnije za stanični metabolizam biljke nego djelovanje iona nikla.
4. Pod utjecajem iona metala promjene na biljkama uključuju uvenuće, klorozu te pojavu nekrotičnih područja na listovima.
5. Povećane koncentracije iona metala u tlu uzrokuju abnormalan rast biljke.

MATERIJAL I METODE RADA

Za početak istraživanja osmišljen je plan istraživanja prema kojemu su varijeteti korišteni kao materijali u istraživanju svrstani u tri skupine (A, B i C). Svaka skupina sadrži jedinke samo jednog varijeteta vrste *Phaseolus vulgaris* L., kako slijedi: A – grah trešnjevac, B – bijeli grah te C – crveni grah.

Za tretiranje varijeteta pripremljene su po tri vodene otopine dvaju metalnih iona volumena 250 mL. Za pripremu otopine s ionima nikla (Ni^{2+}) množinske koncentracije 10 mmoldm^{-3} u 250 mL destilirane vode otopljeno je 0,702 g nikal(II) sulfata heptahidrata ($\text{NiSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), dok je za otopinu množinske koncentracije $c=20 \text{ mmoldm}^{-3}$ u 250 mL destilirane vode otopljeno 1,404 g iste soli. Konačno, za pripremu otopine množinske koncentracije $c=30 \text{ mmoldm}^{-3}$ u 250 mL destilirane vode otopljeno je 2,107 g nikal(II) sulfata heptahidrata. Nadalje, pripremljene su i vodene otopine s ionima olova (Pb^{2+}) istog volumena te sukladnih množinskih koncentracija otopina ($10, 20$ i 30 mmoldm^{-3}). Za pripremu otopine množinske koncentracije 10 mmoldm^{-3} otopljeno je 0,828 g olovo(II) nitrata ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), za drugu u slijedu otopljeno je 1,656 g, dok je za otopinu množinske koncentracije $c=30 \text{ mmoldm}^{-3}$ otopljeno 2,484 g iste soli u 250 mL destilirane vode.

Skupinu A čini sedam uzoraka s dvije jedinke graha trešnjeva od čega je jedan uzorak kontrolni. Tri uzorka s po dvije jedinke u seriji tretirane su otopinama s ionima nikla pripadajuće množinske koncentracije ($10, 20$ i 30 mmoldm^{-3}), a preostala tri uzorka skupine A tretirane su otopinama iona olova. Skupinu B čini sedam uzoraka bijelog graha, dok skupina C sadrži sedam uzoraka crvenoga graha. Skupine B i C tretiraju se vodenim otopinama s ionima nikla i olova na isti način kao skupina A s pripadajućim kontrolnim uzorcima koje tretiramo vodovodnom vodom.

Tretiranje jedinki započelo je sedam dana nakon klijanja, a trajalo je pet dana. Do početka tretiranja s prethodno pripremljenim vodenim otopinama metala, sve jedinke su zalijevane jednom dnevno vodovodnom vodom ($V=10 \text{ mL}$). Nakon što je tretiranje započelo sve su jedinke zalijevane na dnevnoj bazi dodijeljenom otopinom iona metala ($V=10 \text{ mL}$). Kontrolne jedinke su tijekom cijelog istraživanja zalijevane jednakim volumenom vodovodne vode ($V=10 \text{ mL}$).

Tijekom istraživanja moguće promjene u fenotipu uzoraka praćene su na dnevnoj bazi.



U drugom dijelu istraživanja za svaki uzorak, Hillovom se reakcijom određuje intenzitet fotosinteze kako bi se rezultati za tretirane biljke mogli usporediti s rezultatima kontrolnih uzoraka te između pojedinih serija. Kako bi drugi dio istraživanja započeo potrebno je pripremiti fosfatni pufer, a zatim izolacijsku i stabilizacijsku otopinu te otopinu reagensa 2,6-diklorofenol-indofenola (DCPIP). Fosfatni pufer (pH=7,0) pripremljen je otapanjem 8,96 g natrijeva fosfata i 3,4 g kalij dihidrogen fosfata u 1 L vode. Izolacijska otopina pripremljena je otapanjem 68,46 g saharoze i 0,38 g kalijevog klorida u 500 mL fosfatnog pufera, a stabilizacijska otopina otapanjem 0,93 g natrijevog klorida u 250 mL fosfatnog pufera. Reagens je pripremljen otapanjem 0,0092 g 2,6-diklorofenol-indofenola u 100 mL fosfatnog pufera. Izolacijsku i stabilizacijsku otopinu potrebno je ohladiti na 4°C kako bi se usporilo oksidiranje i enzimski hidroliza uzoraka.

S uzorka kojemu se određuje intenzitet fotosinteze prvo se uklone listovi i odstrane veće provodne žile te peteljke. Škarama se usitni 1,5 g listova te se dodaje 20 mL ohlađene izolacijske otopine u čašu s usitnjenim listovima. Sadržaj čaše dobro se usitni štapnim mikserom kako bi se mogli izolirati kloroplasti (slika 2). Pripremljeni uzorak se filtrira (slika 3). Budući da su pore filter papira manje od kloroplasta pa se oni većim dijelom zadržavaju na filter papiru, umjesto filter papira upotrijebljene su najlonske čarape pomoću kojih se učinkovito može odijeliti kruti dio od filtrata. Filtrat se prikuplja u ohlađene epruvete te se uzorak centrifugira na 5000 rpm deset minuta. Supernatant se ukloni, a odvojenom talogu se dodaje 2 mL stabilizacijske otopine te se pipetom homogenizira.



Slika 2 – Usitnjeni listovi s izolacijskom otopinom



Slika 3 – Filtriranje suspenzije usitnjenih listova

Prije određivanja apsorbancije kolorimetar se kalibrira s kivetom u kojoj su dodana 3 mL vode. Uzorke za određivanje apsorbancije pripremi se u kivetama odmjeravanjem 1 mL DCPIP reagensa, 1 mL fosfatnog pufera te 1 mL homogeniziranog uzorka izoliranih kloroplasta. U trenutku kada je dodan uzorak kloroplasta, očita se apsorbancija i to vrijeme se bilježi kao početno, nulto vrijeme. Za svaki uzorak u seriji A, B i C odrade se tri kolorimetrijska mjerenja apsorbancije pri valnoj duljini 580 nm u vremenskim intervalima 0, 1, 3, 5, 7 i 9 minuta nakon dodavanja uzorka u kivetu. Između svakog očitavanja apsorbancije uzorak se izloži intenzivnoj svjetlosti na prozorskoj dasci. Konačni rezultati apsorbancije za svaki uzorak izračunaju se kao prosječna vrijednost rezultata svih mjerenja istog uzorka.



Slika 4 – kivete prije dodavanja uzoraka kloroplasta



Slika 5 – određivanje apsorbancije

Nakon što su prikupljeni podatci za sve serije mjerenja, rezultati su statistički obrađeni, a odnos apsorbancije i proteklog vremena prikazuje se grafički za svaku seriju. Pri tome se usporede rezultati i zaključi jesu li početne hipoteze potvrđene.

REZULTATI

Rezultati uzoraka skupine A

Rezultati kontrolnog uzorka skupine A

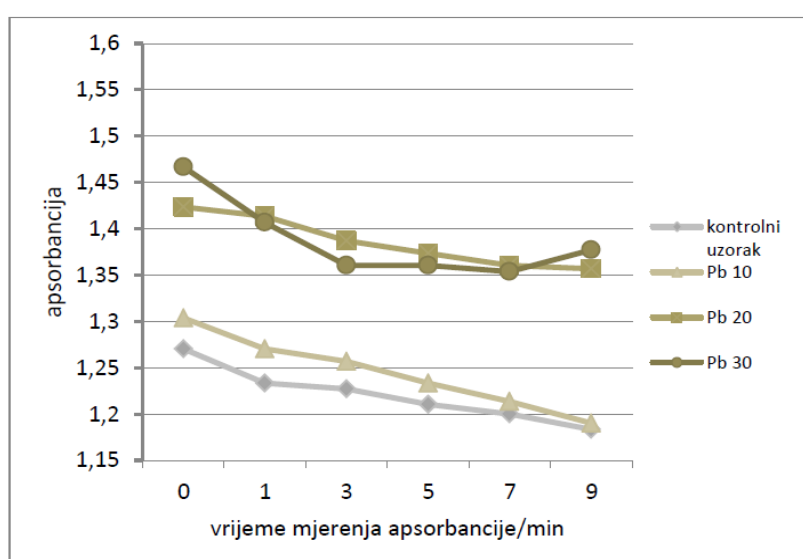
Rezultati mjerenja apsorbancije kontrolnog uzorka serije A vidljivi su u tablici 1. Za sva mjerenja apsorbancije kontrolnog uzorka određene su prosječne vrijednosti koje su pri interpretaciji podataka uspoređivane s rezultatima za druge uzorke. Za sva mjerenja određena je i vrijednost standardne devijacije zbog kontrole statistički značajnih razlika među mjerenjima.

Tablica 1 – Prikaz rezultata apsorbancije za tri mjerenja kontrolnog uzorka skupine A (K1, K2, K3), njihovih prosječnih vrijednosti ($\bar{x}$) te vrijednosti standardnih devijacija za tri mjerenja.

oznaka uzorka	Vrijeme mjerenja apsorbancije/min	0	1	3	5	7	9
	$\bar{x}$						
K ₁		1,22	1,19	1,18	1,17	1,16	1,15
K ₂		1,23	1,19	1,18	1,17	1,16	1,13
K ₃		1,36	1,32	1,32	1,29	1,28	1,27
SD		0,078	0,075	0,081	0,069	0,069	0,076
$\bar{x}$		1,27	1,23	1,23	1,21	1,20	1,18

Rezultati serije uzoraka skupine A tretiranih vodenim otopinama s ionima olova

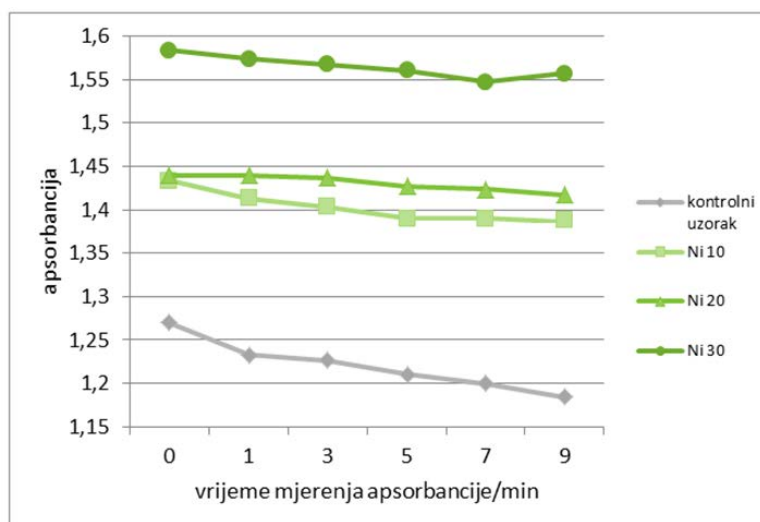
Nakon što su prikupljeni i zabilježeni rezultati mjerenja apsorbancije za sve tretirane uzorke u skupini A, određene su njihove prosječne vrijednosti te je određena standardna devijacija (prilog 1). Dobiveni rezultati za uzorke tretirane vodenim otopinama s ionima olova prethodno navedenih množinskih koncentracija (10, 20 i 30 mmoldm⁻³) uspoređeni su s prosječnim rezultatima mjerenja apsorbancije kontrolnog uzorka (slika 6). Iz grafičkog prikaza vidljivo je da se pri većim koncentracijama olova u zemlji intenzitet primarnih reakcija fotosinteze smanjuje. Dakle, najmanji utjecaj na intenzitet primarnih reakcija fotosinteze imaju ioni olova pri množinskoj koncentraciji 10 mmoldm⁻³, dok podjednako snažan utjecaj imaju pri množinskim koncentracijama 20 i 30 mmoldm⁻³. Bez obzira na smanjenje intenziteta primarnih reakcija fotosinteze proporcionalno povećanju koncentracije iona olova u zemlji, primarne reakcije fotosinteze se ipak odvijaju u proučavanim vremenskim intervalima.



Slika 6 – Usporedba prosječnih rezultata mjerenja apsorbancije za uzorke jedinki graha trešnjeva tretiranih otopinama iona olova ($c=10, 20, 30 \text{ mmoldm}^{-3}$) s prosječnim rezultatima mjerenja apsorbancije kontrolnog uzorka.

Rezultati serije uzoraka skupine A tretiranih vodenim otopinama s ionima nikla

Za sva tri mjerenja određene su njihove prosječne vrijednosti i vrijednosti standardne devijacije (prilog 2). Dobiveni rezultati za uzorke tretirane vodenim otopinama s ionima nikla triju množinskih koncentracija (10, 20 i 30 mmoldm⁻³) uspoređeni su s prosječnim vrijednostima rezultata mjerenja apsorbancije kontrolnog uzorka (slika 7). Očitavanjem iz navedenog grafičkog prikaza uočljivo je da prisutnost iona nikla u tlu, čak i pri relativno malim koncentracijama, ima značajan utjecaj na primarne reakcije fotosinteze graha trešnjeva. Intenziteti primarnih reakcija fotosinteze za koncentracije 10 i 20 mmoldm⁻³ su približno jednaki, ali slabiji od onog kod kontrolne jedinke. Povećanjem množinske koncentracije otopine s ionima nikla kojom se tretira jedinku na 30 mmoldm⁻³ intenzitet primarnih reakcija fotosinteze znatno slabi, a sam proces fotosinteze se vremenom zaustavlja.



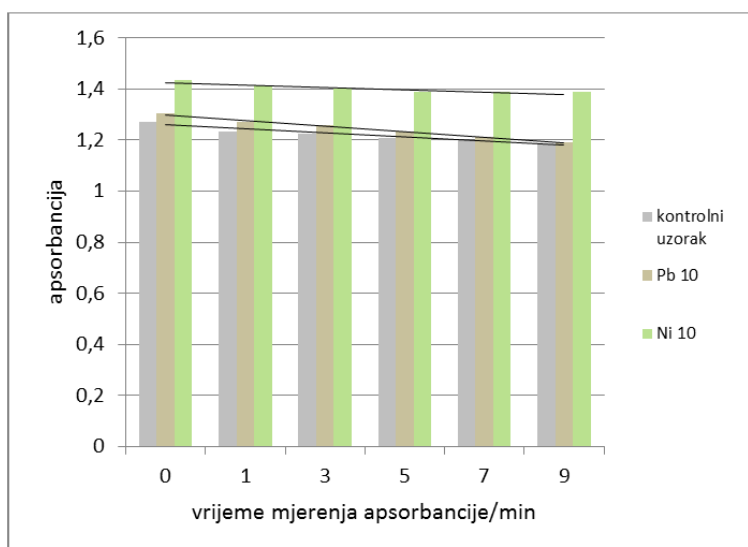
Slika 7 – Usporedba prosječnih rezultata mjerenja apsorbancije za uzorke jedinki graha trešnjeva tretiranih otopinama ionima nikla ($c=10, 20, 30 \text{ mmol dm}^{-3}$) s prosječnim rezultatima mjerenja apsorbancije kontrolnog uzorka.

Usporedba rezultata mjerenja apsorbancije uzoraka serije A tretiranih otopinama s ionima olova i nikla iste množinske koncentracije

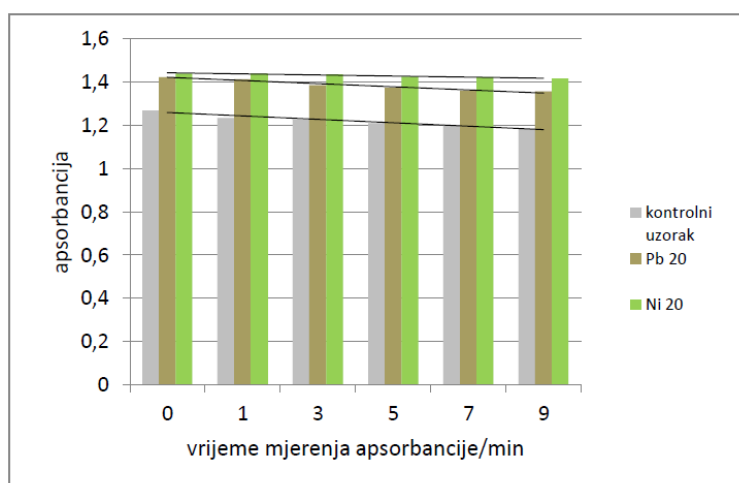
Usporedbom rezultata mjerenja apsorbancije za uzorke tretirane otopinom s ionima nikla ($c=10 \text{ mmol dm}^{-3}$) s rezultatima za uzorke tretirane otopinom ionima olova sukladne koncentracije, uočava se značajno odstupanje u intenzitetu primarnih reakcija fotosinteze (slika 8). Jedinke tretirane otopinom s ionima nikla imaju slabiji intenzitet primarnih reakcija fotosinteze od onih tretiranih otopinom s ionima olova. Iz grafa (slika 8) kod svih je uzoraka uočljiv ujednačeni pad vrijednosti apsorbancije.

Usporedba rezultata mjerenja apsorbancije za jedinke tretirane vodenim otopinama s ionima olova i nikla množinskih koncentracija 20 mmol dm^{-3} također je prikazana grafički (slika 9). Iz navedenog prikaza uočljivo je da je intenzitet primarnih reakcija fotosinteze kod jedinke tretirane otopinom s ionima nikla puno slabiji nego u kontrolnom uzorku, a tek neznatno slabiji u usporedbi s intenzitetom primarnih reakcija fotosinteze jedinke tretirane otopinom s ionima olova. S povećanjem množinske koncentracije otopine, utjecaj iona olova na intenzitet primarnih reakcija fotosinteze raste pa intenzitet primarnih reakcija fotosinteze, sukladno tome, slabi.

Nadalje, usporede li se rezultati mjerenja za jedinke tretirane otopinom s ionima olova s kontrolnim uzorkom, uočljivo je da olovo u navedenoj koncentraciji nema značajniji utjecaj na intenzitet primarnih reakcija fotosinteze.

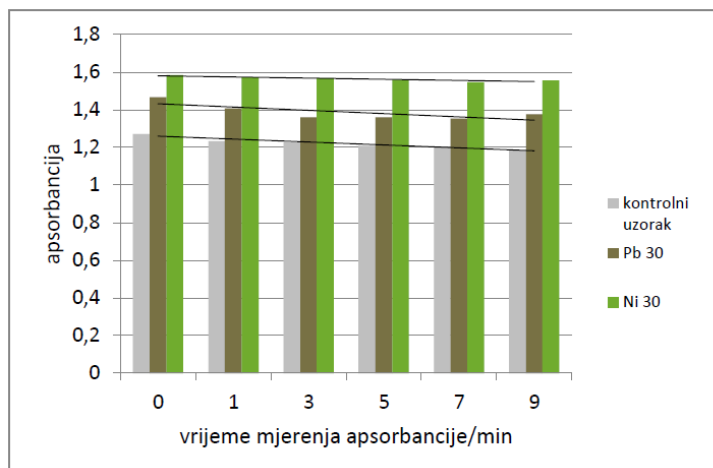


Slika 8 – Usporedba prosječnih rezultata mjerenja apsorbanije kontrolnog uzorka s rezultatima uzoraka graha trešnjeva tretiranih vodenom otopinom s ionima olova ($c=10 \text{ mmoldm}^{-3}$) te s rezultatima uzoraka tretiranih vodenom otopinom s ionima nikla ($c=10 \text{ mmol dm}^{-3}$).



Slika 9 – Usporedba prosječnih rezultata mjerenja apsorbanije kontrolnog uzorka graha trešnjeva s rezultatima uzoraka tretiranih vodenom otopinom iona olova ($c=20 \text{ mmoldm}^{-3}$) te s rezultatima uzoraka tretiranih vodenom otopinom iona nikla ($c=20 \text{ mmoldm}^{-3}$).

Konačno, usporedbom rezultata uzoraka skupine A tretiranih vodenom otopinom s ionima olova ($c=30 \text{ mmoldm}^{-3}$) s rezultatima uzoraka tretiranih vodenom otopinom s ionima nikla sukladne množinske koncentracije, uočljivo je da ioni nikla štetnije djeluju na intenzitet primarnih reakcija fotosinteze graha trešnjeva nego ioni olova. (slika 10).



Slika 10 – Usporedba prosječnih rezultata mjerenja apsorbancije kontrolnog uzorka graha trešnjeva s rezultatima uzoraka tretiranih vodenom otopinom iona olova ($c=30 \text{ mmol dm}^{-3}$) te s rezultatima uzoraka tretiranih vodenom otopinom iona nikla ($c=30 \text{ mmol dm}^{-3}$).

Rezultati uzoraka skupina B i C

Istraživanje nije bilo moguće provesti na crvenom i bijelom grahu budući da značajan dio sjemenki nije proključao unatoč ponovljenom sijanju (prilog 3). Provođenje istraživanja na sjemenkama koje su proključale pružilo bi količinu podataka nedostatnu za usporedbu s rezultatima za skupinu A te donošenje zaključaka o utjecaju nikla i olova na ove varijetete vrste *Phaseolus vulgaris* L.

Klijavost

Za skupinu A klijavost je iznosila 92,85%, što znači da je od 14 posadenih sjemenki proključalo njih 13. U skupinama B i C klijavost je bila znatno slabija. Za skupinu B je iznosila 35,71%, a za skupinu C 28,57%. S obzirom na činjenicu da su sve skupine (A, B, C) bile izložene istim uvjetima, a pokazale različitu klijavost unatoč promjenama izvora sjemenki te uzevši u obzir izgled sjemenki koje nisu proključale (prilog 1), može se zaključiti da je mogući uzrok loše klijavosti starost sjemena nezadovoljavajuće kvalitete koje nije imalo nikakav ili je imalo vrlo slab potencijal klijanja.

Promjene u fenotipu

Promjene u fenotipu uočene tijekom istraživanja uključuju pojavu rupica, varijacije u boji te klorozu (prilog 4) na listovima jedinki tretiranih otopinama s ionima olova množinske koncentracije 20 mmol dm^{-3} . Nadalje, na listovima jedinki tretiranih otopinama s ionima nikla množinske koncentracije 30 mmol dm^{-3} uočen je mjestimični gubitak klorofila (prilog 5). Konačno, na listovima gotovo svih jedinki tretiranih otopinama s ionima nikla množinskih koncentracija 20 i 30 mmol dm^{-3} pojavila su se izbočenja. Nekrotična područja se nisu pojavila, kao ni abnormalan rast i uvenuće.

RASPRAVA

Aggarwal i sur. (2012.) navode da prekomjerna koncentracija metala štetno utječe na metabolizam biljke, osobito na proces fotosinteze. Rezultati ovog istraživanja potvrđuju njihov zaključak budući da je intenzitet primarnih reakcija fotosinteze jedinki tretiranih otopinama s ionima metala znatno slabiji u usporedbi s intenzitetom fotosinteze kontrolnih jedinki. Nadalje, utvrđeno je i da se intenzitet primarnih reakcija fotosinteze smanjuje proporcionalno s množinskom



koncentracijom otopina s ionima metala kojima su jedinke tretirane, što je sukladno s rezultatima Lisjaka i sur. (2008.) koji navode da uključivanje metala poput olova i nikla u metabolizam biljaka uzrokuje promjene specifičnih metaboličkih putova.

Tolerancija varijeteta vrste *Phaseolus vulgaris* L. na onečišćenje metalima značajno je manje istražena od samog utjecaja metala na njihove stanične procese. Unatoč tome što grah trešnjevac podjednako dobro podnosi izloženost olovu i niklu, moguće je da ima sposobnost pohrane olova u vegetativnim organima kada je u suvišku u manjim koncentracijama.

Kod jedinki graha trešnjevac tretiranih otopinama s ionima olova množinske koncentracije 30 mmol dm^{-3} pri kraju istraživanja ukupna koncentracija iona olova kojom je zemlja tretirana iznosila je 150 mmol dm^{-3} . Pri izloženosti jedinke toj koncentraciji primarne reakcije fotosinteze se još uvijek odvijaju, sa smanjenim intenzitetom, do neke točke u vremenu u kojoj se zaustavljaju. Uzevši u obzir sve uočene promjene na biljnom organizmu, navedena koncentracija ipak nema izrazito štetan utjecaj na jedinku. Navedene činjenice upućuju na zaključak da bi grah trešnjevac mogao biti koristan za fitoremedijaciju tla zagađenih olovom, no da bi se to utvrdilo sa sigurnošću, potrebno je provesti dodatna istraživanja koja bi se fokusirala na uspoređivanje početne količine metala u zemlji s onom nakon uzgoja biljaka. Također, da bi se točnije odredilo kada se primarne reakcije fotosinteze zaustavljaju pod utjecajem onečišćenja zemlje niklom, istraživanje je potrebno proširiti tako da se apsorbancija mjeri i dulje nakon određenih vremenskih intervala u ovom istraživanju.

Budući da kod jedinki graha trešnjevac tretiranih otopinama s ionima olova nije došlo do vidljivog gubitka klorofila, pretpostavka Piotrowske i sur. (2009.) da olovo u suvišku u tlu može inhibirati sintezu klorofila onemogućavajući unos i iskorištavanje esencijalnih elemenata za njegovu sintezu, prema rezultatima ovog istraživanja, nije potvrđena.

Prisutnost nikla u zemlji u svim slučajevima je na biljni organizam djelovala štetnije nego prisutnost olova u istim koncentracijama. Prema Maxymiec (2007.) učinak prisutnosti metala u tlu može biti rezultat njihovog štetnog djelovanja na fotosintetski aparat, što potvrđuju i dobiveni rezultati. Prema tome, moguće je da su ioni nikla zamijenili ione magnezija u molekulama klorofila te na taj način utjecali na intenzitet fotosinteze (Prasad, 1998.).

Zapažene promjene u fenotipu ne mogu se izravno povezati s koncentracijom iona metala prisutnog u zemlji jer se prethodno navedene promjene i oštećenja ne pojačavaju i ne povećava im se učestalost proporcionalno s porastom množinske koncentracije otopina s metalnim ionima.

ZAKLJUČCI

- ☞ Smanjenje intenziteta primarnih reakcija fotosinteze proporcionalno je povećanju koncentracije olova i nikla u zemlji; početna hipoteza je potvrđena.
- ☞ Ioni nikla imaju štetniji utjecaj na intenzitet primarnih reakcija fotosinteze nego ioni olova, što znači da početna hipoteza nije potvrđena.
- ☞ Tretiranje jedinki graha trešnjevac otopinom iona olova množinske koncentracije 30 mmol dm^{-3} rezultira zaustavljanjem primarnih reakcija fotosinteze nakon sedme minute mjerenja.



- ☛ Ioni nikla su štetni za primarne reakcije fotosinteze i pri relativno niskim koncentracijama; početna hipoteza nije potvrđena.
- ☛ Grah trešnjevca pokazuje visoki stupanj otpornosti na utjecaj onečišćenjem ionima olova što znači da postoji potencijal za primjenu u fitoremedijaciji tla onečišćenih olovom.
- ☛ Promjene na jedinkama tretiranim otopinama iona olova množinske koncentracije 20 mmol dm⁻³ uključuju klorozu i varijacije boje listova te nastanak rupica u lisnom tkivu.
- ☛ Tretiranje jedinki graha trešnjevca otopinama iona nikla množinske koncentracije 30 mmol dm⁻³ dovodi do mjestimične kloroze lisnog tkiva i gubitka klorofila.
- ☛ Tretiranje jedinki graha trešnjevca otopinama iona nikla množinske koncentracije 20 i 30 mmol dm⁻³ rezultira pojavom izbočenja i varijacija u boji listova.
- ☛ Uslijed onečišćenja zemlje otopinama iona nikla i olova množinskih koncentracija 10, 20 i 30 mmol dm⁻³ ne pojavljuje se uvenuće niti nekroza biljnog tkiva.
- ☛ Intenzitet promjena u fenotipu ne može se izravno povezati s porastom množinskih koncentracija otopina iona olova i nikla.
- ☛ Tretiranje jedinki otopinama iona olova i nikla množinskih koncentracija 10, 20 i 30 mmol dm⁻³ nije rezultiralo abnormalnim rastom biljke pa početna hipoteza nije potvrđena.

LITERATURA

- Aggarwal A., Sharma I., Tripathi B.N., Munjal A.K., Baunthiyal M., Sharma V. 2012. Metal Toxicity and Photosynthesis, Itoh S. (ur.), Guruprasad K.N. (ur.), Mohanty P. (ur.), *Photosynthesis: Overviews on Recent Progress and Future Perspectives*, I. K. International Publishing House, New Delhi, str. 229-236
- Lagerwerff J. V., Specht A. W. 1970. Contamination of roadside soil and vegetation with cadmium, nickel, lead and zinc. *Environmental Science and Technology*, 4: 583-586
- Lisjak M., Engler M., Đurđević B., Karalić K., Parađiković N. 2008. Akumulacija suhe tvari i sadržaj fotosintetskih pigmenata u rotkvici (*Raphanus sativus* L.) kao pokazatelji toksičnosti bakra i olova. *Poljoprivreda*, 14: 5-10
- Lukša Ž., Mikulić S. 2009. Temeljni metabolički procesi u biljkama, Ćorić S. (ur.), *Život 3 – udžbenik biologije za 3. razred gimnazije*, Školska knjiga, d.d., Zagreb, str. 154-165
- Maxymiec, W. 2007. Signaling responses in plants to heavy metal stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29: 177-187
- Pevalek-Kozlina B. 2003. Fiziologija bilja, Pevalek-Kozlina B. (ur.), Profil International, Zagreb, str. 157-179
- Piotrowska A., Bajguz A., Godlewska B., Czerpak R., Kaminska M. 2009. Jasmonic acid as modulator of lead toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). *Environmental and Experimental Botany*, 66: 507-513
- Prasad M.N.V. 1998. Metal-biomolecule complexes in plants: Occurrence, functions, and applications. *Analysis*, 26: 25-28.
- Springer O.P., Pevalek-Kozlina B. 2011. Fotosinteza, Springer O.P. (ur.), *Živi svijet 3 – Fiziologija čovjeka i životni procesi u biljkama*, Profil International, Zagreb, str. 254-265
- Walker, D.A. 2002. 'And whose bright presence' – an appreciation of Robert Hill and his reaction. *Photosynthesis Research*, 73: 51-54
- Wang S.H., Yang Z.M., Yang H., Lu B., Li S.Q., Lu Y.P. 2004. Copper-induced stress and antioxidative responses in roots of *Brassica juncea* L. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45: 203-212.
- Yang H.M., Zhang X.Y., Wang G.X. 2004. Effects of heavy metals on stomatal movements on broad bean leaves. *Russian Journal of Plant Physiology*, 51: 547-555



PRILOZI

Prilog 1 – Tablični prikaz rezultata apsorbancije u vremenskim intervalima 0 – 9 minuta za tri mjerenja uzoraka tretiranih otopinom s ionima olova ($c=10, 20, 30 \text{ mol dm}^{-3}$) u seriji A (Pb 10, Pb 20, Pb 30), njihovih prosječnih vrijednosti () te vrijednosti standardnih devijacija.

	Vrijeme mjerenja apsorbancije/min	$\bar{x}$					
		0	1	3	5	7	9
uzorci	Pb 10 ₁	1,32	1,27	1,24	1,23	1,20	1,19
	Pb 10 ₂	1,35	1,32	1,32	1,29	1,28	1,23
	Pb 10 ₃	1,24	1,22	1,21	1,18	1,16	1,15
	SD	0,057	0,050	0,057	0,055	0,061	0,040
	χ	1,30	1,27	1,26	1,23	1,21	1,19
uzorci	Pb 20 ₁	1,46	1,46	1,42	1,42	1,42	1,41
	Pb 20 ₂	1,44	1,43	1,40	1,39	1,36	1,36
	Pb 20 ₃	1,37	1,35	1,34	1,31	1,30	1,30
	SD	0,047	0,057	0,042	0,057	0,060	0,055
	χ	1,42	1,41	1,39	1,37	1,36	1,36
uzorci	Pb 30 ₁	1,46	1,40	1,36	1,37	1,36	1,39
	Pb 30 ₂	1,44	1,39	1,34	1,35	1,35	1,35
	Pb 30 ₃	1,50	1,43	1,38	1,36	1,35	1,39
	SD	0,031	0,021	0,020	0,010	0,006	0,023
	χ	1,47	1,41	1,36	1,36	1,35	1,38

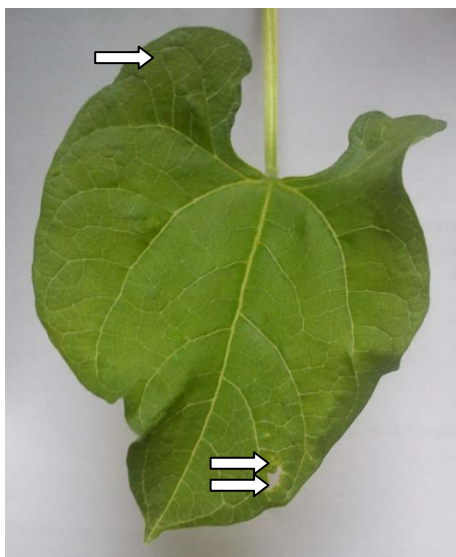
Prilog 2 - Tablični prikaz rezultata apsorbancije u vremenskim intervalima od 0-9 minuta za tri mjerenja uzoraka tretiranih otopinom s ionima nikla ($c=10, 20, 30 \text{ mol dm}^{-3}$) u seriji A (Ni 10, Ni 20, Ni 30), njihovih prosječnih vrijednosti () te vrijednosti standardnih devijacija.

	Vrijeme mjerenja apsorbancije/min	$\bar{x}$					
		0	1	3	5	7	9
uzorci	Ni 10 ₁	1,45	1,43	1,42	1,40	1,41	1,40
	Ni 10 ₂	1,45	1,44	1,43	1,42	1,42	1,41
	Ni 10 ₃	1,40	1,37	1,36	1,35	1,34	1,35
	SD	0,029	0,038	0,038	0,036	0,044	0,032
	χ	1,43	1,41	1,40	1,39	1,39	1,39
uzorci	Ni 20 ₁	1,45	1,45	1,45	1,44	1,43	1,43
	Ni 20 ₂	1,44	1,44	1,43	1,42	1,42	1,41
	Ni 20 ₃	1,43	1,43	1,43	1,42	1,42	1,41
	SD	0,010	0,010	0,012	0,012	0,006	0,012
	χ	1,44	1,44	1,44	1,43	1,42	1,42
uzorci	Ni 30 ₁	1,57	1,56	1,55	1,55	1,53	1,54
	Ni 30 ₂	1,59	1,58	1,57	1,56	1,54	1,56
	Ni 30 ₃	1,59	1,58	1,58	1,57	1,57	1,57
	SD	0,012	0,012	0,015	0,010	0,021	0,015
	χ	1,58	1,57	1,57	1,56	1,55	1,56

Prilog 3 – Fotografija jedne od sjemenki bijelog graha koja nije proklijala



Prilog 4 - Prikaz promjena u fenotipu graha trešnjeva (varijacije u boji na rubovima lista, pojava rupica u lisnom tkivu te kloroza na rubovima istih).



Prilog 5 – Prikaz promjena u fenotipu graha trešnjeva (mjestimičan gubitak klorofila).

