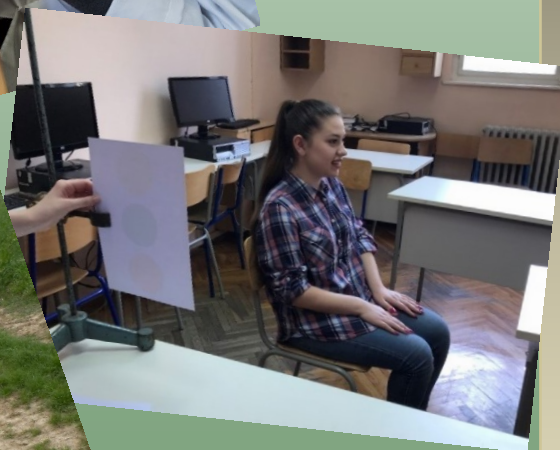
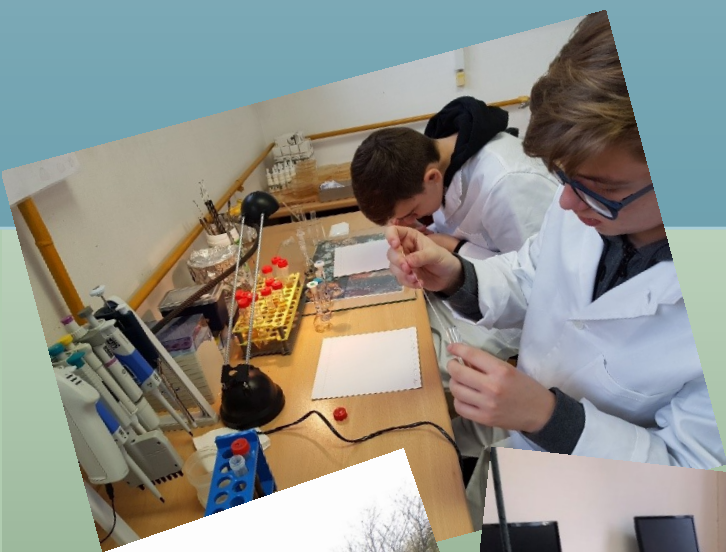


Hrvatsko biološko društvo
Societas biologorum croatica

BioZnalac

časopis učeničkih istraživanja iz biologije

2018.



Pokrovitelj:



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

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

Marina Ništ, Marina.Nist@azoo.hr

Andreja Lucić, andreja.lucic@biol.pmf.hr

Recenzenti

Doroteja Domjanović Horvat, Eduard Kletečki, Ivna Kocijan, Petra Korać, Sanja Kovačić, Andreja Lucić, Vlatka Kuhar, Zorana Sedlar, Mirela Sertić Perić, Josip Skejo

Web urednik

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

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

SADRŽAJ

Članak	Autori	Naslov rada	Razred	Mentor	Naziv škole	Stranice
1	<i>Dora Bralić Klara Pažin</i>	UGROŽENOST PERUNIKA VIROVITIČKOG PODRUČJA	8.	<i>Jasna Razlog-Grlica</i>	Osnovna škola Ivane Brlić- Mažuranić Virovitica Virovitica	1-11
2	<i>Doroteja Hunjadi</i>	UTJECAJ TEMPERATURE, SVJETLOSTI I HRANE NA RAST I PRESVLAČENJE RAKA KUČARA <i>Clibanarius erythropus</i> (Latreille, 1818)	8.	<i>Sanja Janušić</i>	III. OŠ Čakovec Čakovec	12-20
3	<i>Krala Milotić Nina Milotić</i>	ANTIOKSIDANSIMA PROTIV MUTACIJA	8.	<i>Maja Curić</i>	OŠ Vladimira Nazora Pazin	21-30
4	<i>Nadja Novak Sara Trnovčanec</i>	KUĆNI LJUBIMCI ISPRED OGLEDALA	8.	<i>Nataša Pongrac</i>	Osnovna škola Strahoninec Strahoninec	31-40
5	<i>Petra Rako Klara Krajnik</i>	UČINAK FOLNE KISELINE I VITAMINA D NA MORFOLOŠKE MALFORMACIJE EMBRIJA ZEBRICE	8.	<i>Vedran Balta</i>	Osnovna škola Ante Kovačić Zagreb	41-48
6	<i>Lucija Tomić</i>	UTJECAJ KOFEINA NA KLIJAVOST SALATE KRISTALKE (<i>Lactuca sativa</i>)	8.	<i>Ana Katalinić Bach</i>	OŠ Starigrad Starigrad Paklenica	49-56
7	<i>David Bendelja Franjo Križaić</i>	USPOREDBA SASTAVA I ANTIMIKROBNOG UČINKA RAZLIČITIH OTOPINA PROPOLISA	2.	<i>Žaklin Lukša</i>	Gimnazija Josipa Slavenskog Čakovec	57-69
8	<i>Sara Dolički</i>	UTJECAJ STRESA NA KRATKOROČNO PAMĆENJE ISPITANIKA SVIJETLE I TAMNE BOJE KOSE	2.	<i>Adriana Ivandić</i>	II. gimnazija Zagreb	70-79
9	<i>Leona Periša</i>	UTJECAJ RAZLIČITIH IZVORA SVJETLOSTI NA RAST I RAZVOJ BILJAKA	2.	<i>Sanja Lugarić</i>	Srednja škola Vrbovec Vrbovec	80-92
10	<i>Ana Randić Nina Randić</i>	MIKROMORFOLOŠKA I MAKROMORFOLOŠKA OBILJEŽJA PRIMORSKOG, PLANINSKOG I KRŠKOG VRISKA	2.	<i>Romana Halapir Franković</i>	V. gimnazija Zagreb	93-105
11	<i>Petra Rebić Leona Zečević</i>	Rebić i Zečević - UTJECAJ UV- ZRAČENJA I BILJNIH MACERATA NA KLIJAVOST SJEMENKI PŠENICE	2.	<i>Ines Tovarović</i>	Gimnazija Petra Preradovića Virovitica	106-116
12	<i>Laura Busak</i>	PERIFERNI VID: POGLED IZ DRUGE PERSPEKTIVE	3.	<i>Petra Međeral Ozimec</i>	V. gimnazija Zagreb	117-124
13	<i>Krševan Medić Olivia Ivanka Jurković</i>	BENTOSKE BIOCENOZE U PODMORJU OTOČIČA GALEVCA U ZADARSKOM ARHIPELAGU	3.	<i>Marija Nižić</i>	Gimnazija Vladimira Nazora Zadar	125-138
14	<i>Iva Radečić</i>	„TOPLINSKI OTOK“ U GRADU JASTREBARSKOM	3.	<i>Klementina Stepinac</i>	Srednja škola Jastrebarsko Jastrebarsko	139-147
15	<i>Marija Perović</i>	FAUNA DANJIH LEPTIRA (LEPIDOPTERA: RHOPALOCERA) NA PODRUČJU TUROPOLJA	4.	<i>Romana Halapir Franković</i>	V. gimnazija Zagreb	148-

UGROŽENOST PERUNIKA VIROVITIČKOG PODRUČJA

Dora Bralić, 8. razred

Klara Pažin, 8. razred

Osnovna škola Ivane Brlić-Mažuranić Virovitica, Virovitica

Mentor: Jasna Razlog-Grlica

SAŽETAK

U radu je prikazana rasprostranjenost i procijenjena ugroženost močvarne žute perunike (*Iris pseudacorus* L.) i sibirske perunike (*Iris sibirica* ssp. *sibirica* L.) na virovitičkom području tijekom 2017. godine. Određivana je gustoća i pokrovnost populacija. Močvarna žuta perunika zabilježena je na deset lokaliteta: uz obale potoka Ođenice te obale stajaćica kod Virovitičkih ribnjaka i područja kanala Manteč i taložnice kraj tvornice šećera. Njene su populacije više ugrožene utvrđivanjem obala i onečišćenjem vode na potoku Ođenici, nego na drugim lokalitetima u gradu i okolici. Sibirska perunika je zabilježena samo na močvarnoj livadi u blizini Virovitičkih ribnjaka. Za sada je najviše ugrožava promjena razine vode zbog melioracija. Zbog najave uređenja ovih staništa potrebno je propisati mjere zaštite i upoznati građane s važnošću očuvanja samoniklih perunika ovog područja.

Ključne riječi: *perunike, Virovitica, zaštita*

UVOD

Perunike su višegodišnje zeljaste biljke sa zadebljalim rizomom (Mitić i Cigić, 2009). Nadzemna je stabljika uspravna i visoka od 10 cm do preko jednog metra. Listovi su bez peteljki, sabljastog oblika i s vrlo izraženom paralelnom nervaturom. Cvjetovi su dvospolni, većinom krupni i živopisnih boja, pojedinačni ili udruženi u cvat. Svaki cvijet ima uglavnom dva ovojna lista (spate). Njihov se izgled često koristi u razlikovanju vrsta perunika. U biološkom je smislu cvijet perunike građen iz tri identične i biološki samostalne cjeline. Svaku cjelinu sačinjavaju: vanjski list perigona, prašnik, prošireni obojeni vrat tučka s krpastom njuškom te pripadajući pretinac plodnice sa sjemenim zamecima. U procesu oprašivanja svaka se cjelina cvijeta može oprašiti zasebno. Sjemenke su relativno velike, kuglaste, kruškaste ili spljoštene, s glatkom ili izbrazdanom površinom, tamnosmeđe do crvenkastosmeđe boje. Većina se perunika vrlo lako razmnožava vegetativno, pomoću rizoma (Mitić i Cigić, 2009).

Perunike pripadaju porodici *Iridaceae* unutar jednosupnica (*Monocotyledonae*). Prema podacima FCD baze flore Hrvatske (Nikolić, 2017) u Hrvatskoj je prisutno 12 samoniklih svojti te tri kultivirane svojte perunika (svojte ili taksoni su sistematske, odnosno taksonomske jedinice u hijerarhijskom sustavu). Sve su perunike u Hrvatskoj strogo zaštićene svojte (Narodne novine, 2013).

Na području nizinske Hrvatske zabilježena je močvarna žuta perunika (*Iris pseudacorus* L.) i dvije svojte sibirske perunike (*Iris sibirica* L. i *Iris sibirica* ssp. *sibirica* L.). Ove su svojte opisane na širem virovitičkom području (Delić i sur., 2001; Petras, 1957; Razlog-Grlica i Grlica, 2007), no nema podataka o njihovoj brojnosti.

Močvarna žuta perunika je široko rasprostranjena vrsta na vlažnim i močvarnim staništima. Nalazimo je u Europi, na Kavkazu, Maloj Aziji, u zapadnom Sibiru i sjevernoj Africi. U Hrvatskoj je prisutna na gotovo svim vlažnim i močvarnim staništima (slika 1a): od sjevera (Hrvatsko zagorje), istoka (Slavonija, Baranja) i središnjeg dijela (okolica Zagreba) do juga (Dalmacija, Velebit).



Slika 1.a) Rasprostranjenost močvarne žute perunike (*Iris pseudacorus* L.) i b) sibirske perunike (*Iris sibirica* ssp. *sibirica* L.) u Hrvatskoj (izvor: Nikolić, 2015)

Sibirska perunika je jedna od rijetkih perunika u flori Hrvatske koja pripada skupini perunika bez papila, tj. bez "brade" (sect. *Apogon-Iris*). Raste na nizinskim vlažnim i močvarnim livadama. Rasprostranjena je na području srednje i istočne Europe, na Balkanskom poluotoku, Kavkazu, Maloj Aziji, te zapadnoj i srednjoj Aziji (Mitić, 2014). Na području Hrvatske većinom dolazi u njezinom kontinentalnom dijelu (slika 1b), ali su njena staništa rjeđa. Stoga se nalazi se u kategoriji VU, osjetljive biljke (Nikolić i Topić, 2005; Topić, 2017).

Prema podacima Mohorovića (1986) grad Virovitica se razvio uz potok Ođenicu, rijeku Dravu i obronke Bilogore. Za područje grada Virovitice karakteristična je umjerena kontinentalna klima s vrlo povoljnim ljetnim temperaturama, obilnim ljetnim oborinama, dovoljno dugim bezmraznim razdobljem i povoljnom strukturom tla (Milković, 2000). Virovitica se smjestila u aluvijalnoj ravnici Podravine, na staništu šume hrasta lužnjaka i običnoga graba. Zbog sve veće urbanizacije smanjuje se udio zelenih površina u gradu.

U sedmom smo razredu priredile kratak istraživački rad o perunikama za nastavu biologije. Uočile smo značenje tih biljaka i njihovu raznolikost u flori Hrvatske. Kao članice skupine Mladih biologa nastojimo upoznati znanstvene metode istraživanja, učimo se timskom radu i primjenjujemo teoretska znanja iz biologije na konkretnim primjerima u gradu. Učenici naše škole od 2002. godine prate stanje vrsta i staništa u gradu. No, do sada nisu prikupljeni podatci o perunikama te smo odlučile istražiti samonikle perunike našeg kraja.

Cilj istraživačkog rada je prikazati gdje rastu i što ugrožava samonikle perunike na virovitičkom području. Nakon toga predložiti mjere zaštite da se održe njihove populacije na širem gradskom području. Istraživačka pitanja koja smo postavile bila su: Na kojim lokalitetima rastu i što ih ugrožava? Je li močvarna žuta perunika manje ugrožena od sibirske perunike?

Pretpostavljamo da je veća rasprostranjenost močvarne žute perunike nego sibirske perunike jer su njena staništa manje ugrožena.

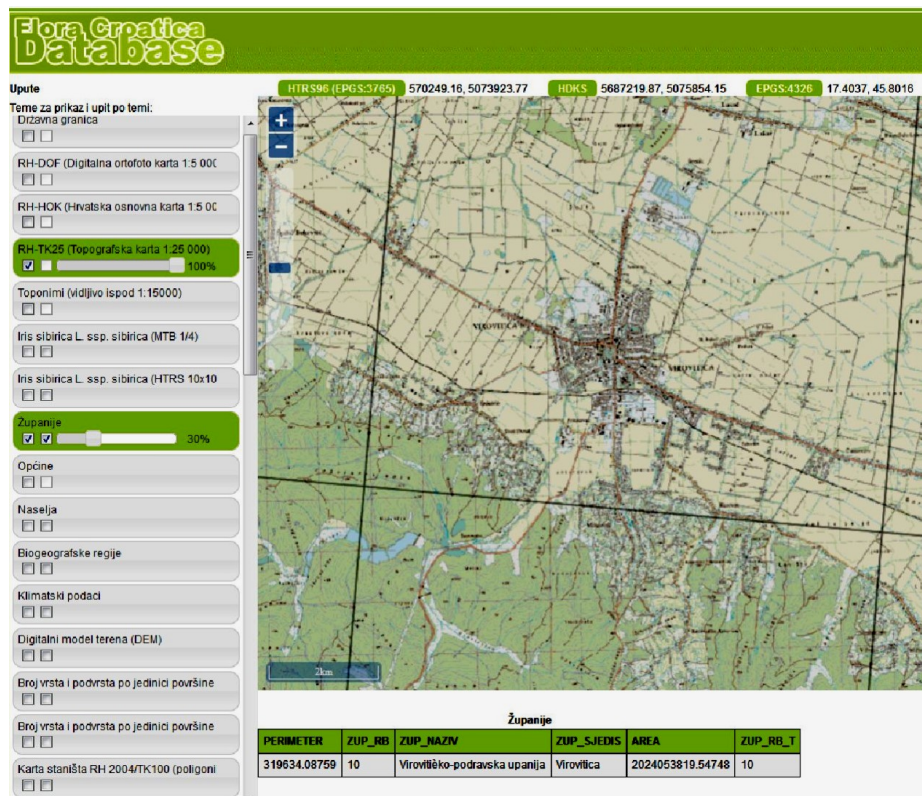
METODE

Istraživanje je provedeno od travnja do prosinca 2017. godine. Nakon odabira teme istraživačkog projekta proučena je postojeća literatura i uočeni su problemi. Potom je odabrano područje

istraživanja i prikupljeni su podatci o močvarnoj žutoj i sibirskoj perunici na istraživanom području. O planu i provedbi istraživanja izvještena je Javna ustanova za upravljanje zaštićenim dijelovima prirode i ekološkom mrežom Virovitičko-podravske županije.

Opis istraživačkog područja

Područje istraživanja je šire područje grada Virovitice, ograničeno na područje kvadrata HTRS 10X10 km (slika 2) na zemljovidu geoportala iz FCD baze za floru Hrvatske (Nikolić, 2015).



Slika 2. Područje istraživanja - šire područje grada Virovitice (izvor: geoportal FDC prema Nikolić 2015)

Lokaliteti su odabrani temeljem podataka iz literature. Tijekom obilaska lokaliteta određena je točka njegovog središta i zabilježen je položaj pomoću GPS prijemnika. Položaj točaka je provjeren na Google Earth -u. Tip staništa je za svaki lokalitet određen prema Pravilniku o popisu stanišnih tipova, karti staništa te ugroženim i rijetkim stanišnim tipovima (Narodne novine, 2014) gdje je prikazana Nacionalna klasifikacija staništa Republike Hrvatske.

Procjena gustoće populacije i pokrovnosti perunika

Za svaki lokalitet odgovarajuće veličine (od šest do dvadeset metara kvadratnih za obale i stotinjak metara kvadratnih za livade) ispunjen je formular A3 prema Priručniku za inventarizaciju i praćenje stanja (Nikolić, 2006). U formularu A3 su popunjavani slijedeći podaci: ime promatrača, datum, podaci o plohi (tip, koordinate, veličina plohe te opis lokaliteta i uzroci ugroženosti), podaci o svojstama (gustoća G2 i pokrovnost P) i napravljena je skica lokaliteta. Određena je gustoća (G2) procjenom jedinki kao osnovni pokazatelj stanja populacije i pokrovnost svojiti (P) kao dopunski pokazatelj koji pridonosi stvaranju opće slike stanja populacije perunika na određenom lokalitetu. Budući da ove



perunike rastu uz vodena i močvarna staništa i da su često prilazi tim područjima otežani, a biljke su strogo zaštićene gustoća populacije procjenjivana, a jedinke nisu brojane.

Procijenjena je gustoća perunika tj. broj jedinki prema jedinici površine prema ljestvici od pet stupnjeva prema Braun-Blaquetu (Nikolić, 2006) gdje je:

- | | |
|-----------------------------------|--|
| 1 oznaka za vrlo rijetko nazočnu, | 3 oznaka za slabo nazočnu, |
| 2 oznaka za rijetko nazočnu, | 4 oznaka za brojno nazočnu |
| | 5 oznaka za vrlo brojnonazočnu svojtu. |

Rezultat procjene ove ljestvice predstavlja okvirnu brojnost.

Pokrovnost svojti na određenom lokalitetu provedena je uporabom ljestvice za procjenu pokrovnosti prema Braun-Blanquetu (Nikolić, 2006):

- oznaka 5 su svojte koje prekrivaju 76 do 100 % površine,
- oznaka 4 su svojte koje prekrivaju 50 do 75 % površine,
- oznaka 3 su svojte koje prekrivaju 25 do 50 % površine,
- oznaka 2 su svojte koje prekrivaju 10 do 25 % površine
- oznaka 1 su one svojte koje prekrivaju 1 do 10 % površine.

Procjena ugroženosti i mjera zaštite perunika

Za svako stanište perunike na temelju prikupljenih podataka izrađen je inventarizacijski listić (Nikolić, 2006). U listiću je, osim opisa svojte, prikazano što ugrožava stanište te su predloženi načini zaštite. Posebno su istaknute promjene koje su zapažene terenskim radom tijekom godine i promjene proizašle iz razgovora i usmenim anketiranjem građana koje su oni uočili tijekom zadnje dvije godine. Svim zainteresiranim građanima postavljena su pitanja o otme prepoznaju li ugrožene i zaštićene perunike, jesu li ih vidjeli u virovitičkom području i ako jesu što ih ugrožava na tom staništu. Biljke su fotografirane pazeći da ih se ne oštećuju biljke.

Pri istraživanju je korišten sljedeći pribor i materijal:

- | | |
|--------------------------------------|--|
| - zemljovid (1:25 000) | - bilježnicu za Dnevnik promatranja |
| - kompas i GPS Garmin Etrex | - formulari za procjenu stanja populacija A3 |
| - ključevi za određivanje biljaka | - pribor za pisanje |
| (Domac, 1995; Javorka Csapodi, 1991) | - priređene tekstove o perunikama |
| - fotoapararat Nikon Coolpix P80 | |

Podatci o ugroženim i zaštićenim vrstama priređeni su prema Crvenoj knjizi biljnih vrsta Republike Hrvatske (Nikolić i Topić, 2005), podacima FCD baze (Nikolić, 2017) i Narodnim novinama (Narodne novine, 2013). Nazivi su svojti perunika usuglašeni s FCD bazom (Nikolić, 2017).

REZULTATI

Na širem području grada zabilježene su močvarna žuta perunika na deset lokaliteta i sibiriska perunika na samo jednom lokalitetu, močvarnoj livadi u blizini ceste koja vodi na Virovitičke ribnjake.

Gustoća i pokrovnost populacija močvarne žute perunike na virovitičkom području

Močvarna žuta perunika zabilježena je na području Šećerane (dva lokaliteta), potoka Ođenice (četiri lokaliteta) i Ribnjaka (četiri lokaliteta). Za svaki lokalitet navedeni su tip staništa prema NKS-u, položaj (koordinate) te gustoća i pokrovnost populacija (tablica 1).

Tablica 1. Gustoća i pokrovnost močvarne žute perunike na virovitičkom području

Lokalitet	Tip staništa	Koordinate	Gustoća (G2)	Pokrovnost (P)
Šećerana 1 Akumulacija	4.1.1. Tršćaci i rogozici	45.858420° 17.401752° n.v. 112 m	rijetko nazočna stupanj 2	6 % stupanj 1
Šećerana 2 Manteč	A.2.4.1. Kanali sa stalnim protokom	45.858420° 17.401752° n.v. 112 m	rijetko nazočna stupanj 2	16% stupanj 2
Ođenica 1 uzvodno	A.2.3.2. Spori vodotoci	45.793654° 17.307588° n.v. 119 m	vrlo rijetko nazočna stupanj 1	31 % stupanj 3
Ođenica 2 Preradovićeve ulica	A.2.3.2. Spori vodotoci	45.796053° 17.307337° n.v. 119 m	vrlo rijetko nazočna stupanj 1	13 % stupanj 2
Ođenica 3 Miočićeve ulica	A.2.3.2. Spori vodotoci	45.800072° 17.326743° n.v. 119 m	vrlo rijetko nazočna stupanj 1	8 % stupanj 1
Ođenica 4 Strosmajerova ulica	A.2.3.2. Spori vodotoci	45.802975° 17.334459° n.v. 119 m	rijetko nazočna stupanj 2	28% stupanj 3
Ribnjaci 1	A.4.1.1.9. Zajednica velike pirevine	45.836759° 17.378409° n.v. 117 m	rijetko nazočna stupanj 2	20% stupanj 2
Ribnjaci 2	A.4.1.1.9. Zajednica velike pirevine	45.834397° 17.377601° n.v. 112 m	rijetko nazočna stupanj 2	40% stupanj 3
Ribnjaci 3	4.1.1. Tršćaci i rogozici	45.830843° 17.375422° n.v. 112 m	slabo nazočna stupanj 3	30% stupanj 3
Ribnjaci 4	4.1.1. Tršćaci i rogozici	45.858420° 17.401752° n.v. 112 m	rijetko nazočna stupanj 2	20% stupanj 2

Iz tablice 1 vidljivo je da se populacije ove perunike najbolje razvijaju na Ribnjacima uz tršćake, a najmanje ih je na Ođenici u gradu. Ova perunika se bolje razvija na obalama stajaćica. Nalazimo je na raznolikim močvarnim staništima u ovom području.

Područje Šećerane

Na području Šećerane močvarne žute perunike (slika 4) razvile su se na obalama, sjeverno od grada (slika 3), uz vodotok Manteč (površine od 6 m²) i uz taložnicu zaraslu u trsku (površine od 10 m²). Ovi lokaliteti su nastali prije tridesetak godina kada je s radom počela tvornica šećera Viro d.d.. Prema NKS-u to su: A.4.1.1. Tršćaci i rogozici (područje zadnje taložnice) gdje je perunika zabilježena s ostalim močvarnim svojstama na površini od 60 m² i A.2.4.1. Kanali sa stalnim protokom (odvodni kanal Manteč).



Slika 3. Karta rasprostranjenosti perunika na području Šećerane

Slika 4. Močvarna žuta perunika (*Iris pseudocorus* L.) na Manteču

Gustoća ovih jedinki bila je manja nego pokrovnost (tablica 1, slika 4). Perunike su rasle uz trsku, mentu, šaš i druge obalne biljke

Područje potoka Ođenice

Na području Ođenice perunike nalazimo na četiri lokaliteta uz obale Ođenice u gradu na mjestima gdje je voda sporijeg toka i dublja (slika 6). Manja je gustoća i pokrovnost populacija u samom središtu grada nego na lokalitetima izvan grada (tablica 1, slika 5).



Slika 5. Karta rasprostranjenosti perunika na području Ođenice

Ovo područje pripada prema NKS-u u A.2.3.2. Sporim vodotocima. Lokaliteti su bili površine od 6 m² do 12 m².

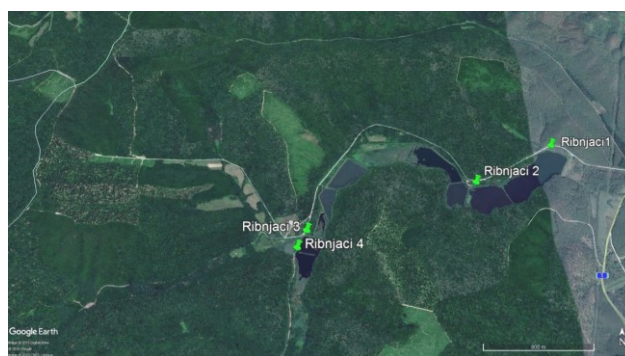


Slika 6. Uređene i pokošene obale Ođenice u gradu

Na ovom području perunike su ugrožene onečišćenjem vode zbog blizine octare, bacanjem smeća i utvrđivanjem obala (slika 6), najviše u samom centru grada, a planira se i daljnje uređenje. Perunike su cvale krajem travnja i u svibnju.

Područje Virovitičkih ribnjaka

Jugozapadno od grada nalazimo Virovitičke ribnjake čije su obale zarasle u močvarnu vegetaciju. Močvarna žuta perunika na području Ribnjaka zabilježena je na četiri lokaliteta (slika 7). Raste uz obale zajedno s trskom rogozom mentom i drugim močvarnim vrstama.



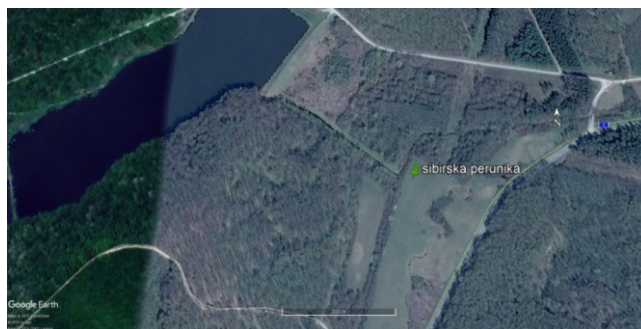
Slika 7. Karta rasprostranjenosti perunika na području Ribnjaka

Na lokalitetu Ribnjaci 1 tijekom godine dolaze građani u većem broju nego na druge lokalitete ovog područja, te je češće beru. Ovi lokaliteti pripadaju prema NKS-u staništima A.4.1.1. Trščaci i rogozici i A.4.1.1.9. Zajednicievelike pirevine. Močvarna žuta perunika je zabilježena na plohama površine od 10 m² do 20 m².

Gustoća i pokrovnost populacija sibirске perunike na virovitičkom području

Sibirska perunika zabilježena na Ribnjacima pripada podvrsti tipična sibirska perunika (*Iris sibirica* ssp. *sibirica*). Njezini cvjetovi fotografirani su od travnja do početka svibnja (slika 9).

Raste na livadi gdje se voda zadržava (prema NKS-u C.2.2.2 trajno vlažne livade Srednje Europe), uz cestu u blizini Ribnjaka (X=45.799626°, Y=17.342204°, n.v. 112 m). Livada je privatno vlasništvo i za sada se održava košnjom. Jedinke sibirске perunike rastu u onom dijelu livade gdje ima više vode (slika 8). Gustoća populacije je nešto veća (stupanj 3, slabo nazočna) od pokrovnosti (stupanj 2, prekriva 10 do 20 % površine).



Slika 8. Karta rasprostranjenosti sibirске perunika na području ribnjaka

Uz perunike ovdje rasti livadne biljke kao što su rumenika, djeteline, stolisnik, razne biljke trave i druge biljke (slika 9).

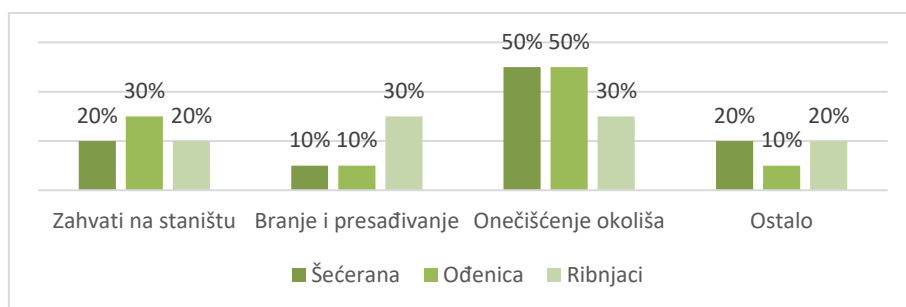


Slika 9. Sibirski perunika (*Iris sibirica ssp. sibirica L.*)

Ovo stanište je već zabilježeno na ovom području (Delić i sur., 2007), no nije uneseno u bazu flore Hrvatske. Obuhvaća 442 m². Polako zarasta u grmlje i tijekom godine isušuje se zbog postojanja melioracijskih kanala u blizini.

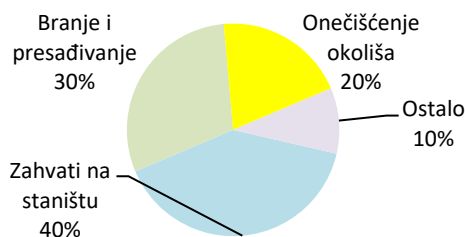
Rezultati procjene ugroženosti i prijedlog načina zaštite perunika na virovitičkom području

Na temelju prikupljenih podataka tijekom rada i iz razgovora s građanima i učenicima kojima su postavljana ista pitanja (prepoznaju li perunike na fotografijama i gdje su ih vidjeli, zatim, znaju li kako su na tim područjima ugrožene u zadnje dvije godine i da li su primijetili da se beru i presađuju) izdvojena su tri najčešća uzroka ugroženosti perunika. To su: zahvati na staništima nastali djelovanjem čovjeka kao što su uređivanje obala, košnja obala, melioracije i dr. te branje i presađivanje i onečišćenje okoliša tj. onečišćenje vode i tla (Slike 10 i 11). Podatci o branju i presađivanju su upotpunjeni rezultatima ankete s roditeljima i učenicima u školi.



Slika 10. Prikaz uzroka ugroženosti močvarne žute perunike (*Iris pseudocorus L.*) na virovitičkom području

Vidljivo je da je močvarna žuta perunika najviše ugrožena na sva tri područja onečišćavanjem okoliša, dok je sibirski perunika ugrožena zbog zahvata u blizini staništa.



Slika 11. Prikaz uzroka ugroženosti sibirski perunike (*Iris sibirica ssp. sibirica L.*) na virovitičkom području



Veća je ugroženost sibirске perunike zbog zahvata na staništu (40 %) gdje se smanjuje vlažna površina uslijed melioracije nego zbog onečišćenja okoliša. No, kako je ova perunika uočljivih lijepih cvjetova češće se bere (30 % ugroženosti) jer raste uz cestu i lako je dostupna.

Da bismo zaštitili ove perunike potrebno je prije svega ukazati na njihovo značenje za floru Hrvatske i upozoriti na njihovu ugroženost. Uz to bi trebalo dodatno zaštititi preostale vodene površine u gradu od onečišćenja i smanjivanja staništa.

RASPRAVA

Močvarna žuta perunika (*I. pseudocorus* L.) i sibirska perunika (*I. sibirica* ssp. *sibirica* L.) se za virovitičko područje spominju prije šezdesetak godina u diplomskom radu prof. Adele Petras (Petras, 1957) kada su zabilježene na livadama i kanalima. Stanište sibirске perunike, livada na kojoj smo i mi našle istraživanu vrstu, opisano je prije šesnaest godina u časopisu Priroda (Delić i sur., 2001). To znači da su ove dvije vrste perunika opstale na virovitičkom području barem zadnjih šezdesetak godina. Koliko se u međuvremenu smanjila njihova brojnost ne možemo znati jer o tome nema podataka. Zbog toga su naši podatci važan doprinos njihovom istraživanju. Na tom području zabilježeno je još nekoliko lokaliteta sibirске perunike (Razlog-Grlica i Grlica, 2002), no ta staništa su zarasla ili isušena. Za detaljniju analizu ugroženosti perunika potreban je monitoring tj. praćenje ovih populacija tijekom više godina na tim staništima. Budući da istraživano područje nije dio ekološke mreže, taj monitoring nije obavezan prema Uredbi o ekološkoj mreži (Narodne novine, 2015). Kako je za zaštitu svojti važna zaštita staništa trebalo bi o tome voditi računa kod planiranja uređenja prostora. Zahvati u okolišu (uređenje korita i obala Ođenice, isušivanje dijela Ribnjaka) koji su u planu za Ribnjake i Ođenicu (Virovitica net, 2010; Virovitičko-podravska županija, 2016) svakako će dodatno smanjiti brojnost populacija perunika. Područje Šećerane, iako umjetno stanište, izgleda da pogoduje razvoju močvarne žute perunike. Na ovom području za sada se ne planiraju zahvati koji bi ugrozili perunike.

Posebno bi trebalo nastojati zaštititi sibirsku peruniku tj. njeno stanište u blizini grada. Prema opisima iz literature (Mitić i Cigić, 2009; Nikolić, 2017) opisane jedinice određene su kao podvrsta sibirске perunike, tipična sibirska perunika (*Iris sibirica* L. ssp. *sibirica*) koja dolazi na močvarnim livadama (Štrbenac, 2008). Livada na kojoj dolazi je privatno vlasništvo i za sada se još održava košnjom. Livada se kosi najviše dva puta godišnje u vrijeme dok perunike već ocvatu. Bez mjera održavanja, ispaše i košnje, ova staništa prirodno su podložna sukcesiji i to je jedan od razloga njihova brzog nestanka u Hrvatskoj (Štrbenac, 2008). Topić i Vukelić (2009) navode da su uzroci ugroženosti vlažnih livada promjene u vodnom režimu staništa pa se one više ne mogu vratiti u prethodne travnjake. Velike površine u Slavoniji i Baranji izgledale su prije pedesetak godina kao plava jezera, zahvaljujući proljetnoj dominaciji vrste *Iris sibirica* u poplavnim livadama dugolisne čestoslavice i sjajne mlječke (As. *Veronico longifoliae*-*Euphorbietum lucidae* Bal.-Tul. et Knežević, 1975). Danas je ta zajednica gotovo nestala, a posljednja površina uz Karašicu kod Petrijevac, koja se do pred nekoliko godina održavala povremenom košnjom ili paljenjem, već se nekoliko godina ne održava. Zajednice vlažnih livada Srednje Europe na području istočne Hrvatske uslijed nekorištenja travnjaka i melioracijskih radova već su uvelike nestale, a one koje još postoje u postupku su nestanka. Za neka od ovih staništa već su poduzeti akcijski planovi, a svakako su potrebna intenzivnija istraživanja kako bi se utvrdilo stvarno



stanje te kako bi se poduzele mjere u održavanju biološki vrijednih staništa i zadržala biološka raznolikost Hrvatske.

Perunike su vrlo zahvalne za vrtove i nasade jer nisu jako zahtjevne s obzirom na tlo i vrlo se lako i jednostavno razmnožavaju dijeljenjem podanka, a cvjetovi su im lijepi (Regula-Bevilacqua, 1993). Ljepota njihovih cvjetova privlači građane koji ih beru i presađuju, a ne znaju da su zaštićene. Zato bi građane trebalo educirati o tome koliko su one važne i ugrožene. U našoj zemlji planirani uzgoj i edukaciju zaštićenih svojti za sada provode znanstvenici u Botaničkom vrtu u Zagrebu (Stamenković, 2017) te je zasađen vrt perunika u Donjoj Stubici udruženim snagama lokalne zajednice i znanstvenika (Mitić i Cigić, 2009).

Smatramo da smo svojim istraživanjem postigli zadane ciljeve jer smo prikazale staništa obje svojte i opisale ih tijekom 2017. godine. Hipotezu nismo do kraja dokazale jer da bi se procijenila ugroženost potrebno je više godina pratiti populacije i određivati njihovu brojnost. Zbog toga ćemo nastaviti s našim istraživanjem i praćenjem ovih perunika.

O našim istraživanjima izvijestile smo djelatnike nadležne Javne ustanove u županiji. Budući da ne posjeduju podatke o tim biljkama smatraju naš rad važnim i ponudili su nam suradnju. Nadamo se da će ovaj naš rad biti bar mali doprinos inventarizaciji i zaštiti perunika našeg kraja. O rezultatima svojih istraživanja upoznati ćemo učenike i roditelji u svojoj školi na Dan biološke raznolikosti.

ZAKLJUČCI

Na temelju provedenih istraživanja doneseni su sljedeći zaključci:

- ✱ Močvarna žuta perunika zabilježena je na deset lokaliteta, a sibirski perunika samo na jednom lokalitetu, močvarnoj livadi u virovitičkom području.
- ✱ Močvarna žuta perunika zastupljena je na različitim močvarnim staništima uz obale potoka Ođenice, kanala Manteča i umjetnih akumulacija kod šećerane.
- ✱ Sibirski perunika je više ugrožena svojta jer raste samo na jednom lokalitetu koji smo istražili.
- ✱ Da bi se zaštitile samonikle perunike trebalo bi poduzeti mjere zaštite prije i tijekom uređivanja vodenih područja u gradu i okolici.

Smatramo da bi trebalo više informirati i educirati građane o ugroženosti i zaštiti perunika virovitičkog područja i uspostaviti monitoring samoniklih svojti.

LITERATURA

- Delić A., Razlog-Grlica J., Grlica I. D. 2001. Sibirski perunika (*Iris sibirica* L.) - ugrožena i rijetka biljna vrsta u Hrvatskoj. *Priroda*. 91 (1), 24-25.
- Domac R. 1994. Mala flora Hrvatske i susjednih područja. Školska knjiga, Zagreb.
- Javorka S. Csapodi V. 1991. *Iconographia Florae partis Europae centralis*. Akademia Budapest, Budapest, (reprint).
- Milković J. 2000. Klima Virovitice. Plavi mramor 2, OŠ Vladimira Nazora Virovitica, Virovitica, 14-17.
- Mitić B. 2014. Perunike božanski cvjetovi. *Hrvatska revija*, www.matica.hr/hr/434/perunike-bozanski-cvjetovi 23985/Hrvatska revija 4 2014, pristupljeno 4. prosinca 2017. godine
- Mitić B., Cigić P. 2009: Hrvatski vrt perunika i poučna staza u Donjoj Stubici. Hrvatsko botaničko društvo, Zagreb.
- Mohorović A. 1986. Kulturno-povijesno značenje Virovitice. *Virovitički zbornik (1234-1984)* ed. A. Mohorović, Jugoslav. Akad. Znan. i umjet., Skupština općine Virovitica, 345-351.
- Narodne novine, 2013. Pravilnik o strogo zaštićenim vrstama, Narodne novine https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_12_144_3086.html, pristupljeno 15. studenog 2017. godine



- Narodne novine, 2014. Pravilnik o popisu stanišnih tipova, karti staništa te ugroženim i rijetkim stanišnim tipovima. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014_07_88_1782.html pristupljeno 15.studenog 2017. godine,
- Narodne novine, 2015. Uredba o izmjenama uredbe o ekološkoj mreži, Narodne novine, https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015_10_105_2052.html, pristupljeno 15.studenog 2017. godine
- Nikolić T., Topić J. (ur.) 2005. Crvena knjiga vaskularne flore Hrvatske. Ministarstvo kulture, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- Nikolić T. 2006. Flora - priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- Nikolić T. ur. (2015): Rasprostranjenost *Iris pseudacorus* L. u Hrvatskoj, Flora Croatica baza podataka (<http://hirc.botanic.hr/fcd>). Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, pristupljeno 25. travnja 2017. godine
- Nikolić T. ur. (2015): Rasprostranjenost *Iris sibirica* L. ssp. *sibirica* u Hrvatskoj, Flora Croatica baza podataka, pristupljeno 25. travnja 2017. godine
- Nikolić T. ur. (2015). FCD Geoportal, <http://hirc.botanic.hr/fcd/beta/map/distribution/5429>, pristupljeno 29.svibnja 2017. godine
- Nikolić T. ur.(2017): Flora Croatica baza podataka / Flora Croatica Database. On-LineURL <http://hirc.botanic.hr/fcd>. Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, pristupljeno 25. travnja 2017. godine
- Petras A. 1957. Flora i vegetacija Virovitice i okolice, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Razlog-Grlica J., Grlica I. D. 2002. Inventarizacija staništa na području rijeke Drave u Virovitičko-podravskoj županiji, Zavičaj, 13-14, Ogranak Matice hrvatske, Virovitica, str. 25-35.
- Regula-Bevilacqua LJ. 1993. Hrvatska perunika - *Iris croatica* L. i M. Horvat. Priroda. 83 (2), 20-21.
- Stamenković V. 2017. Zbirka. Botanički vrt Prirodoslovno matematičkog fakulteta, <http://hirc.botanic.hr/vrt/hrv/Mocvarne>, pristupljeno 14. listopada 2017. godine
- Štrbenac A. (ur.) 2008. Izvješće o stanju prirode i zaštite prirode u Republici Hrvatskoj za razdoblje 2000.-2007. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- Virovitičko-podravka županija, 2016. Elaborat.Virovitičko-podravka županija, www.vpz.com.hr/preuzimanje/2016/Razno/elaborat-jezera, pristupljeno 4.prosinca 2017. godine
- Virovitica net, 2010. Počinje veliki projekt uređenja Ođenice. www.virovitica.net/pocinje-veliki-projekt-uredenja-rijeke-odenice/12580, pristupljeno 4.prosinca 2017. godine
- Topić J. 2017. Flora Croatica Crvena knjiga, *Iris sibirica* ssp. *sibirica*, <https://hirc.botanic.hr/fcd/CrvenaKnjiga>, pristupljeno 4. studenog 2017. godine, pristupljeno 4.prosinca 2017. godine
- Topić J Vukelić J. 2009. Priručnik za određivanje kopnenih staništa u Hrvatskoj prema direktivi o staništima EU. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.

UTJECAJ TEMPERATURE, SVJETLOSTI I HRANE NA RAST I PRESVLAČENJE RAKA KUĆARA *Clibanarius erythropus* (Latreille, 1818)

Doroteja Hunjadi, 8. razred

III. OŠ Čakovec, Čakovec

Mentor: Sanja Janušić

SAŽETAK

Rak kućar (*Clibanarius erythropus*) je vrsta raka samca rasprostranjena u Jadranskom moru. Nastanjuje prazne kućice puža obične vretenjače *Cerithium vulgatum*. Ima mekan zadak, a glavopršnjak mu je, kao i prva tri para nogu, prekriven čvrstom kutikulom koja onemogućuje stalan rast pa se povremeno moraju presvlačiti. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi koja je vrsta hrane potrebna za prehranu raka kućara te istražiti utječu li različiti uvjeti na njegov rast i presvlačenje. Istraživano je 60 jedinki raka kućara skupljenih u plitkoj vodi kamenite plaže. Tijekom istraživanja držani su u akvarijima, u raznim prostorijama obiteljskog doma. Korištena je prirodna, morska voda. U prvoj je fazi istraživanja određena vrsta raka te utvrđena minimalna količina hrane potrebna za njegov uzgoj, dok je u drugoj fazi istraživao utjecaj temperature, svjetlosti i količine hrane na rast i učestalost presvlačenja rakova pri čemu su rakovi raspoređeni u četiri eksperimentalne i jednu kontrolnu skupinu. Skupine A1 i B1 su uzgajane u vodi prosječne temperature 23 °C i intenzivnu osvjetljenost od 12 sati na dan. Prva skupina hranjena je minimalnom, a druga maksimalnom količinom hrane. Skupine C1 i D1 uzgajane su u vodi prosječne temperature 13 °C i u mraku. Skupina C1 hranjena je minimalnom količinom hrane, a D1 maksimalnom. Kontrolna skupina K1 je uzgajana pri prosječnoj temperaturi vode od 18 °C, uz dnevno osvjetljenje i umjerenu količinu hrane. Utvrđeno je da se rakovi kućari uglavnom hrane algama, da količina hrane nije presudan uvjet za rast i presvlačenje te da se presvlače samo pri višim temperaturama vode i uz duže razdoblje osvjetljavanja, dok se u mraku ne presvlače. Najpovoljniji uvjeti za rast i presvlačenje istraživanih rakova kućara su temperature vode od 21-22 °C, duži fotoperiod, te obilje hrane.

Ključne riječi: rak samac, puževa kućica, presvlačenje

UVOD

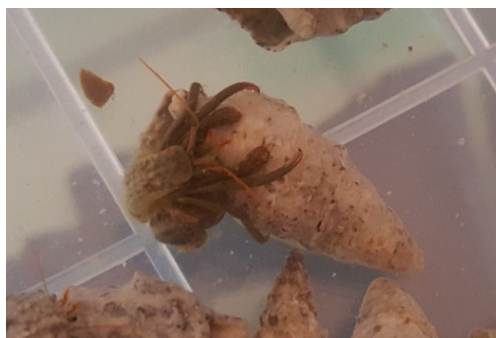
Rakovi (Crustacea) su bilateralno simetrični, najčešće slobodnoživući, vodeni člankonošci koji dišu škrgama. Najčešće žive u moru (84 %), neke vrste žive u vodama na kopnu (13 %), a samo su rijetke vrste prilagođene kopnenom načinu života (3n %) (Matonićkin i sur., 2010). Do danas je otkriveno oko 75 000 vrsta rakova. Potkoljeno Crustacea taksonomski je podijeljeno u 11 razreda. Najbrojniji je razred Malacostraca u kojem je s 18 000 vrsta zastupljen red Decapoda (Habdija i sur., 2011).

U Jadranskom moru je utvrđeno 210 vrsta deseteronožnih rakova. Među njima se nalazi pet vrsta rakova samaca iz porodice Diogenidae: moruzgvin rak samac *Dardanus arrosor*, kosmati samac *Dardanus calidus*, diogenov samac *Diogenes pugilator*, okati rak samac *Paguristes eremita* i rak kućar *Clibanarius erythropus* (Milišić, 2008).

Rak kućar (*Clibanarius erythropus*, Latreille 1818) je u Hrvatskoj poznat i kao gamburata, štrumba, kapunić, skardobula, škakja te spuž. Najčešće živi u plitkoj vodi ispod obalnog kamenja, pojavljuje se i na pjeskovitom dnu do dubine 4 metra. Rasprostranjena je vrsta u čitavom Jadranu, u biotopu gdje je biocenoza fotofilnih algi. Čest je u Mediteranu i u istočnom Atlantiku od Francuske obale do Azora (Milišić, 2008).

Hrani se makroalgama i epifitskim algama, malim beskralježnjacima te organskim ostacima (WIKI, 2017). Ima klijesta i noge maslinasto-zelene ili smeđe-crvene boje s crvenim mrljama, oba klijesta su gotovo jednake veličine. Naraste oko dvadeset milimetara. Od nogu za hodanje dobro su razvijena prva

tri para, a reducirana zadnja dva para služe za pridržavanje kućice. I noge za plivanje na zatku su reducirane, a nalaze se samo s lijeve strane na nekoliko prvih kolutića zatka. Ima par sitnih loptastih crnih očiju s bijelim točkicama na dugim stapkama. Imaju mekan, nezaštićen, asimetričan zadak (Habdija i sur., 2011) (slika 1). Kako slabo pliva i sporo se kreće po dnu ne može pobjeći predatorima pa život spašava skrivajući se, najčešće u praznoj puževoj kućici puža obične vretenjače *Cerithium vulgatum* (Bruguere, 1792) (slika 2). Nastanjuje i kućice drugih vrsta puževa (Milišić, 2008). U opasnosti se potpuno uvlači u kućicu. Nožicama se i klješćima koja mu vire iz kućice brani od napadača. Kućicu stalno nosi sa sobom. Nije cijeli život podstanar u istoj kućici. Mijenja ih svaki put kad mu postanu premale. Prije no što odabere novu kućicu dobro je ispituje, mjeri i opipava svojim klješćima (Habdija i sur., 2011). Neke vrste rakova mijenjaju kućice i do deset puta tijekom života. To je najopasniji dio života raka samca, a traje samo nekoliko sekundi.

Slika 1 Vanjski izgled raka kućara, *Clibanarius erythropus* (Latreille, 1818)(preuzeto s mrežne stranice: http://www.aphotomarine.com/crab_hermit_clibanarius_erythropus.html)Slika 2 Rak kućar u kućici obične vretenjače *Cerithium vulgatum* (Bruguere, 1792) (izvor: Hunjadi, 2017)

Tijelo deseteronožnih rakova se sastoji od 19 kolutića koji su raspoređeni u dvije cjeline, glavopršnjak (cephalopereion) i zadak (pleon). Leđnu stranu glavopršnjaka i zatka prekriva čvrsti karapaks, hitinski pokrov ojačan vapnencem koji čini jak vanjski kostur ili egzoskelet. Iako rakovi samci imaju mekan i osjetljiv zadak, glavopršnjak im je kao i prva tri para nogu za hodanje prekriven čvrstom kutikulom koja onemogućuje stalan rast životinje pa se i oni, kao i ostali deseteronožci, moraju presvlačiti odnosno periodično odbacivati egzoskelet. Ciklus presvlačenja je podijeljen u nekoliko faza: predekdisis, ekdisis, postekdisis i instar faza. Presvlačenje (ekdisis) je regulirano hormonima (ekdison, hormon presvlačenja i MIH, engl. *molt-inhibiting hormone*) i povezano s ekološkim čimbenicima kao što su svjetlost i temperatura. Odgovarajući vanjski podražaji (npr. u riječnih rakova dužina fotoperioda)

utječu na proces presvlačenja (Habdija i sur., 2011). Kad izostane podražaj (npr. svjetlost, povoljna temperatura) pojačava se sinteza i izlučivanje hormona MIH koji zaustavlja proizvodnju ekdisona i presvlačenje.

U mnogih se vrsta deseteronožaca mladi rakovi presvlače više puta na godinu, a kako im tijelo sazrijeva i raste, broj se presvlačenja smanjuje. Kad odbace stari oklop (egzuvij) i dok su još mekani narastu pa potom ponovno izgrade novi i čvrsti egzoskelet.

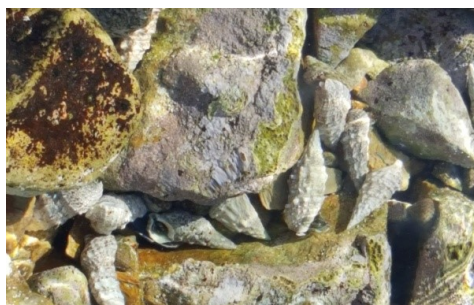
U Jadranskom moru, na pjeskovitom morskom dnu te pogotovo u plićacima ispod obalnoga kamenja često se pojavljuju rakovi samci. Rado ih jedu mnoge ribe pa ih kao mamce često koriste i sportski ribolovci udičari. Mogu se koristiti u akvaristici kao čistači dna akvarija. Ljeti se u plićaku mora često nailazi na kućice puža ispunjene sićušnim rakovima. To su rakovi kućari (*C. erythropus*) iz porodice rakova samaca koji dobro podnose akvarijske uvjete (Milišić, 2008). Ideja je bila proučavati ih u kontroliranim uvjetima koji nalikuju na prirodne (ljetne odnosno zimske) uvjete.

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi vrstu hrane potrebnu za prehranu raka kućara u akvarijskim uvjetima te istražiti utječu li različiti pokusni uvjeti (temperatura vode, prisutnost ili odsutnost svjetlosti, količina hrane) na njihov rast i učestalost presvlačenja.

U skladu s postavljenim ciljevima, a temeljem literaturnih podataka može se pretpostaviti da će jedinke raka kućara jesti raznovrsnu hranu, brže rasti i češće se presvlačiti pri višim temperaturama vode i uz duži fotoperiod. Također se očekuje da će veća količina hrane pospješiti rast, a time i presvlačenje rakova.

METODE RADA

Istraživan je rak kućar (*C. erythropus*), vrsta raka samca često prisutna u Jadranskom moru. Jedinke raka kućara skupljene su na divljoj, kamenitoj plaži Srime tijekom rujna 2017. Pronađeni su u plitkom moru, na 20 do 50 cm dubine, u skupinama, ispod kamenja ili u njihovim udubljenjima (slika 3). Ukupno je prikupljeno 60 rakova otprilike istih veličina. Predviđeno je razdoblje istraživanja od rujna 2017. do sredine veljače 2018. Nakon istraživanja preostali su rakovi vraćeni u more, u prvobitno stanište.



Slika 3 Rak kućar (*Clibanarius erythropus*) u kućicama obične vretenjače, u prirodnom staništu (izvor: Hunjadi, 2017)

Priprema akvarija

Rakovi su tijekom istraživanja držani u uzgojnim posudama, u različitim prostorijama obiteljskog doma. Za akvarije su korištene plastične posude volumena 1 litre. Kako je korištena prirodna morska voda nije



mjeren salinitet. Voda se mijenjala jednom u 24 sata, oko podneva, prije hranjenja rakova pa nije posebno prozračivana. U uzgojnim su posudama bile samo promatrane životinje, nije uređivano dno. Korištena je morska voda donesena s područja s kojeg su rakovi prikupljeni, u više navrata od sredine rujna do kraja prosinca 2017. Voda je skladištena u hladnom podrumu, u plastičnim posudama volumena 40 L.

Odabir vrste i količine hrane

U prvoj fazi, tijekom prvih tjedan dana (15. – 22. rujna 2017.), odabirana je vrsta hrane te su utvrđivane minimalne količine hrane potrebne za uzgoj istraživanih rakova. Korištena je komercijalna *Tetra Wafer mix hrana za ribe i rakove* - mješavina tableta za mesoždere, biljoždere, čistače i rakove koji žive na dnu akvarija. Korištena se hrana sastojala od zelenih tableta spirulina alge (pogodne za biljoždere) i smeđih s ribljim prerađevinama (za mesoždere).

U ovoj su fazi istraživanja rakovi podijeljeni u tri skupine (dvije eksperimentalne – A i B, te jedna kontrolna - K) od po 20 jedinki. Svaka je skupina smještena u odvojenu uzgojnu posudu s morskom vodom. U svih su skupina rakovi hranjeni u početku s po četiri tablete na dan, a svakim sljedećim danom s pola tablete manje dok nije utvrđeno da u uzgojnim posudama nema ostataka hrane, odnosno dok je utvrđena minimalna količina hrane potrebna za preživljavanje. Skupine su hranjene određenom vrstom hrane prema sljedećem predlošku:

A skupina – spirulina (zelene tablete),

B skupina – riblje prerađevine (smeđe tablete),

K skupina (kontrolna) – spirulina te riblje prerađevine (omjer zastupljenosti tableta 1:1).

Svakodnevnim je promatranjem utvrđena vrsta hrane koja najbolje odgovara prehrani rakova. Vizualnom procjenom količine pojedene hrane određena je minimalna količina hrane potrebna za daljnje istraživanje. Za procjenu iskoristivosti ponuđene hrane po zadanim skupinama korištena je sljedeća skala:

- ✓ iskoristivost hrane 0 – 20 %
- ✓ iskoristivost hrane 20 - 40 %
- ✓ iskoristivost hrane 40 - 60 %
- ✓ iskoristivost hrane 60 - 80 %
- ✓ iskoristivost hrane 80 - 100%

Istraživanje utjecaja temperature, svjetlosti i hrane na rast i presvlačenje rakova

U razdoblju od 23. rujna 2017. do 15. veljače 2018. istraživan je utjecaj temperature, svjetlosti i količine hrane na rast i presvlačenje rakova (tablica 1). 60 je rakova iz prethodne faze istraživanja raspoređeno u pet novih skupina, četiri eksperimentalne (A1, B1, C1, D1) i jednu kontrolnu (K1). Svaka se skupina sastojala od 12 jedinki raka kućara. Temperatura vode mjerena je živinim termometrom dva puta dnevno, ujutro i navečer.

Skupine A1 i B1 držane su u sobi, u akvarijima s temperaturom vode od 23 ± 2 °C te im je 12 sati na dan osigurana intenzivna osvjetljenost. Uvjeti su regulirani uz pomoć svjetiljke sa žaruljom snage 25 W iznad promatranih posuda (slika 4). Skupine C1 i D1 stavljene su u akvarije s temperaturom vode od

13±1 °C, u mrak podrumске prostorije (slika 5). Kontrolna skupina K1 stavljena je u hodnik, gdje je temperatura vode u akvariju iznosila 18±2 °C te na prirodno dnevno osvjetljenje (slika 6).



Slika 4 Skupine A1 i B1 - na svjetlu (izvor: Hunjadi, 2018)



Slika 5 Skupine C1 i D1 - u mraku (izvor: Hunjadi, 2018)



Slika 6 Skupina K1 - kontrolna skupina (izvor: Hunjadi, 2018)

Sve su skupine rakova hranjene svaki dan oko podneva istom vrstom, ali različitom količinom hrane prema sljedećem predlošku:

A1 i C1 – ½ tablete (minimalna količina hrane),

B1 i D1 – 2 tablete (četverostruka količina hrane),

K1 (kontrolna skupina) – 1 tableta (dvostruka količina hrane).

Tablica 1 Plan uzgoja rakova po skupinama u uvjetima različite osvjetljenosti, temperature vode i količine hrane

Skupine	A1	B1	C1	D1	K1
Temperatura vode	23±2 °C	23±2 °C	13±1 °C	13±1 °C	18±2 °C
Osvjetljenje	intenzivno 12 h	Intenzivno 12 h	mrak	mrak	dnevno osvjetljenje
Količina hrane	½ tablete	2 tablete	½ tablete	2 tablete	1 tableta

Dnevno se, po skupinama, kontroliraju uvjeti te prate promjene u rastu i presvlačenju rakova. Egzuvij presvučenih rakova sprema se u čiste, zatvorene staklene bočice u 70 %-tni alkohol (slika 7). Uginuli se rakovi evidentiraju te čuvaju u 70 %-tnom alkoholu. Za svaku je skupinu predviđena zasebna bočica. Uzorci se fotografiraju.



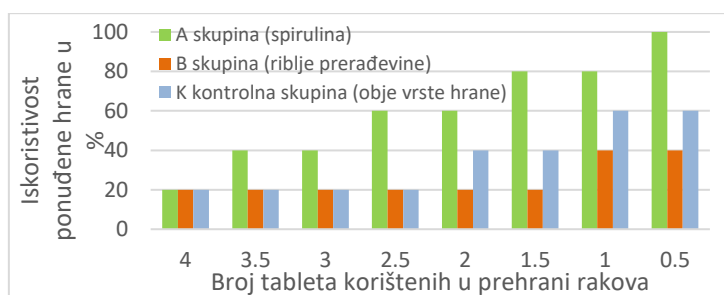
Slika 7 Egzuvij presvučenog raka kućara (izvor: Hunjadi, 2018)

Podaci o stanju i presvlačenju rakova upisuju se svakodnevno u tablice po skupinama. Dobiveni su podaci analizirani uzimajući u obzir utjecaj temperature vode, osvjetljenosti te količine hrane na rast i presvlačenje rakova. Rezultati su prikazani grafički pomoću računalnog programa Microsoft Office Excel 2010.

REZULTATI

Vrsta i količina hrane potrebna za prehranu istraživanih rakova

U razdoblju od 15. – 22. rujna 2017. rakovi su podijeljeni u tri različite skupine (A, B i K – kontrolna skupina) i hranjeni dvjema vrstama hrane – tabletama spiruline i ribljih prerađevina. Promatranjem je utvrđeno da rakovi iz skupine A dobro jedu hranu od alga (spirulina), dok rakovi u skupini B hranjeni hranom na bazi ribljih prerađevina ostavljaju više hrane. Rakovi iz kontrolne skupine K ostavljali su smeđe tablete ribljih prerađevina, dok su zelene tablete spiruline uglavnom pojeli. Kroz procjenu iskoristivosti ponuđene hrane, a prema skali navedenoj u metodama rada, utvrđeno je pola tablete spirulina alge dnevno kao minimalna količina hrane potrebna za preživljavanje rakova (slika 8).

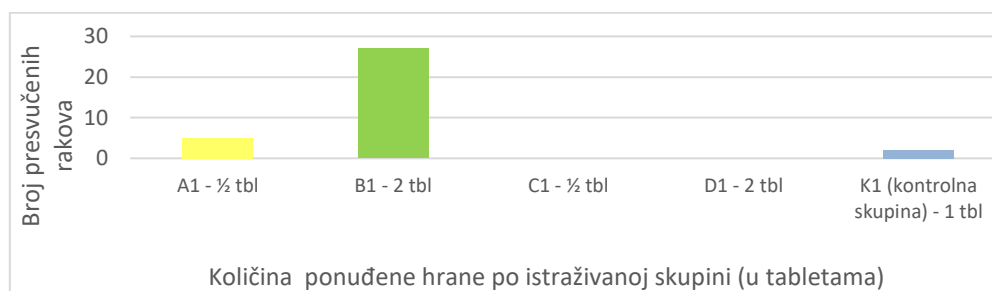


Slika 8 Najpovoljnija vrsta hrane te minimalna količina hrane potrebna za prehranu rakova

Utjecaj temperature, svjetlosti i hrane na rast i presvlačenje raka kućara

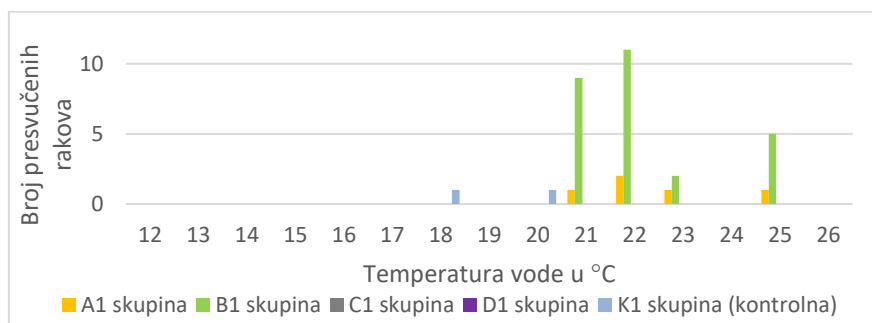
Ovaj dio istraživanja obavljen je u razdoblju od 23. rujna 2017. do 15. veljače 2018. U tom je razdoblju utvrđen broj presvučenih rakova po skupinama, a ovisno o pojedinim zadanim uvjetima.

Skupine B1 (temperatura 23 ± 2 °C i 12 sati osvjetljenja) i D1 (temperatura 13 ± 1 °C i mrak) su se razlikovale s obzirom na broj presvučenih rakova iako su obje skupine dobivale istu, maksimalnu količinu hrane. U skupinama A1 (temperatura 23 ± 2 °C i 12 sati osvjetljenja) i C1 (temperatura 13 ± 1 °C i mrak) gdje su rakovi dobivali minimalnu količinu hrane također je zabilježena različiti broj presvučenih rakova. U skupini B1 presvuklo se 27 rakova, u A1 samo 5 rakova, a u kontrolnoj skupini dva raka. U skupinama D1 i C1 rakovi se nisu presvlačili (slika 9).



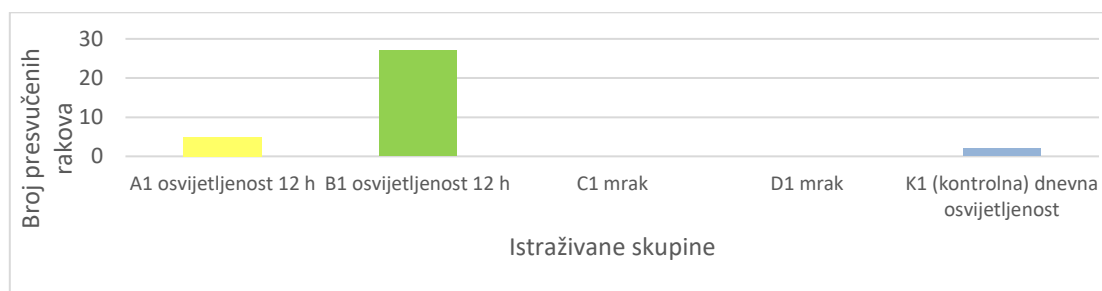
Slika 9 Broj presvučenih rakova s obzirom na količinu ponuđene hrane

S obzirom na različitu temperaturu vode rezultati pokazuju da su se rakovi presvlačili u skupinama A1 i B1 gdje je temperatura vode iznosila 23 ± 2 °C te u kontrolnoj skupini K1 gdje je temperatura vode iznosila 18 ± 2 °C. U skupinama C1 i D1 gdje je temperatura vode iznosila 13 ± 1 °C nije došlo do presvlačenja rakova. Najviše je presvučenih rakova u skupini B1 (12 sati osvjetljenja i 2 tablete hrane), a manje u kontrolnoj skupini (slika 10).



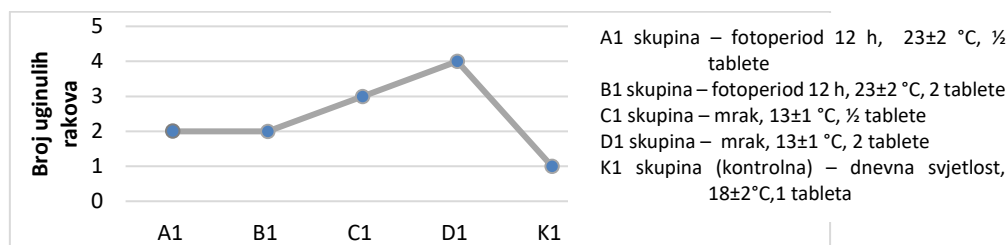
Slika 10 Broj presvučenih rakova s obzirom na temperaturu vode

Rakovi su se presvlačili u skupinama izloženim osvjetljenju – A1, B1 i K1 (kontrolnoj skupini). Najviše presvučenih rakova je u skupini B1 za koju je osvjetljenost, kao i u skupine A1, bila regulirana 12 sati dnevno uz pomoć svjetiljke iznad promatranih uzgojnih posuda. U skupinama C1 i D1 koje su bile smještene u mraku nije bilo presvučenih rakova (slika 11).



Slika 11 Broj presvučenih rakova s obzirom na osvjetljenost

Tijekom istraživanja došlo je do uginuća po nekoliko rakova u svakoj od istraživanih skupina. Ukupno je uginulo 12 rakova. U skupinama A1 i B1 uginula su po dva raka, u skupini C1 tri raka, u skupini D1 četiri raka, a u kontrolnoj skupini jedan rak (slika 12).



Slika 12 Broj uginulih rakova po skupinama



RASPRAVA

Čvrsti egzoskelet rakovima daje stalan oblik, a važan je i za preživljavanje jer pruža zaštitu od vanjskih utjecaja. Zbog tog tvrdog skeleta rakovi ne mogu kontinuirano rasti već je rast i razvoj rakova povezan je s periodičnim presvlačenjem egzoskeleta. Presvlačenje je regulirano hormonima i ovisi o okolišnim faktorima kao što su temperatura vode, dužina fotoperioda i količina hrane (Lesjak, 2015.).

Pretpostavka da će se rakovi kućari hraniti raznovrsnom hranom (makroalgama i epifitskim algama, malim beskralježnjacima te organskim ostacima) utemeljena na literaturnim navodima (WIKI, 2017) nije u potpunosti potvrđena našim istraživanjem. Temeljem provedenog istraživanja opaženo je da rakovi najbolje jedu hranu na bazi alge spiruline, dok hranu životinjskog podrijetla (riblje prerađevine) većinom ostavljaju. Stoga možemo zaključiti da su alge osnovna hrana raka kućara pa nije neobično da ih u akvaristici često koriste kao čistače.

Pretpostavka koja je iznijeta u obrazloženju teme da će veća količina hrane pospješiti rast, a time i presvlačenje rakova je potvrđena samo uvjetno. Naime, u skupini B1 (temperatura 23 ± 2 °C, 12 sati osvjetljenja i dvije tablete) rakovi su se najviše presvlačili, a u skupini D1 (temperatura 13 ± 1 °C, mrak, dvije tablete) se uopće nisu presvlačili iako su obje skupine dobivale istu, najveću količinu hrane (dvije tablete dnevno). Također, skupina A1 (temperatura 23 ± 2 °C, 12 sati osvjetljenja i ½ tablete) se presvlačila, a C1 (temperatura 13 ± 1 °C, mrak, 1/2 tablete) se nije presvlačila iako su dobivale istu, ali najmanju količinu hrane (½ tablete dnevno). Razlog tome se su okolišni čimbenici kao što su temperatura vode i dužina fotoperioda navedeni u literaturi (Hadbija i sur., 2011) koji su se razlikovali u navedenih skupina. To potvrđuje i usporedba skupina A1 i B1. Obje su skupine bile u vodi gotovo iste temperature, izložene istom intenzitetu i trajanju svjetla, ali su dobivale različitu količinu hrane (B1 – najviše, a A1 najmanje). Kako su se u skupini B1 rakovi znatno više presvlačili nego u A1, možemo zaključiti da je količina hrane važan čimbenik u rastu i presvlačenju rakova, ali u ovisnosti o temperaturi vode i osvjetljenosti.

Prema literaturnim podacima rakovi kućari će se razvijati na temperaturama vode od 18-30 °C (Harms, 1992) pa je stoga očekivano da će rakovi uzgajani pri višim temperaturama vode brže rasti i češće se presvlačiti od rakova uzgajanih na nižim temperaturama. S druge strane, preniska temperatura vode će zaustaviti rast i presvlačenje rakova. Skupine rakova A1 i B1 uzgajane pri temperaturi vode 23 ± 2 °C su se presvlačile, dok se rakovi skupina C1 i D1 uzgajani pri temperaturi vode 13 ± 1 °C uopće nisu presvlačili. U kontrolnoj skupini rakova K1, na temperaturi vode 18 ± 2 °C, došlo je do presvlačenja manjeg broja rakova. Ovi rezultati istraživanja potvrđuju naša očekivanja pa možemo zaključiti da je utjecaj temperature vode značajan čimbenik rasta i presvlačenja rakova kućara.

Rezultati ovog istraživanja u skladu su s dosadašnjim spoznajama da je rast rakova povezan s periodičnim odbacivanjem egzoskeleta, a samo presvlačenje regulirano hormonima (ekdison i MIH) koji ovise o dužini fotoperioda (Hadbija i sur., 2011). Tako je primijećeno da su se istraživani rakovi kućari presvlačili u skupinama A1 i B1 koje su bile izložene intenzivnom osvjetljavanju 12 sati dnevno, a da se nisu presvlačili u skupinama C1 i D1 koje su bile u mraku podrumске prostorije. U kontrolnoj skupini koja je bila podvrgnuta prirodnoj dnevnoj svjetlosti (manji intenzitet svjetlosti i kraći



fotoperiod) došlo je do presvlačenja, ali manjeg broja rakova. Istraživanjem su potvrđene naše pretpostavke da duljina fotoperioda značajno utječe na rast i presvlačenje rakova.

Usporedbom rezultata utvrđeno je da su rakovi ugibali u svim skupinama bez obzira na temperaturu vode, količinu hrane ili osvjetljenost. Kako je u skupinama C1 i D1, koje su bile u hladnoj vodi te u mraku, došlo do gotovo dvostruko većeg uginuća možemo pretpostaviti da su to glavni uzroci uginuća rakova u tim skupinama. Uzroci uginuća rakova u ostalim skupinama nisu utvrđeni.

Na temelju našeg istraživanja možemo potvrditi pretpostavku da su najpovoljniji uvjeti za rast i presvlačenje istraživanih rakova kućara temperatura vode od 21-22 °C, izloženost intenzivnom osvjetljavanju 12 sati dnevno, te obilje hrane (2 tablete spirulina alge dnevno) što otprilike odgovara uvjetima u njihovim prirodnim staništima tijekom ljetnih mjeseci.

ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja donijeti su sljedeći zaključci:

- ✱ Istraživani rakovi kućari uglavnom se hrane algama.
- ✱ Količina hrane nije presudan uvjet za rast i presvlačenje rakova kućara.
- ✱ Veća količina hrane povoljno utječe na rast i presvlačenje rakova kućara samo ako su zadovoljeni ostali uvjeti – dovoljno svjetlosti te povoljna temperatura vode.
- ✱ Rakovi kućari se presvlače pri višim temperaturama vode.
- ✱ Rakovi kućari brže rastu i češće se presvlače uz duži period osvjetljavanja, dok se u mraku ne presvlače.
- ✱ Istraživani rakovi kućari češće ugibaju u mraku te pri nižim temperaturama vode.
- ✱ Najpovoljniji uvjeti za rast i presvlačenje istraživanih rakova kućara u našem istraživanju su temperatura vode od 21-22 °C, dugi fotoperiod, te obilje biljne hrane.

LITERATURA

- Habdija I., Habdija P.B., Radanović I., Špoljar M., Kepčija M.R., Karlo V.S., Miliša M., Ostojić A., Perić S.M. 2011. Protista – Protozoa Metazoa – Invertebrata: strukture i funkcije, ALFA, Zagreb, str. 349-399.
- Harms J. 1992., Larval development and delayed metamorphosis in the hermit crab *Clibanarius erythropus* (Latreille) (Crustacea, Diogenidae), Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, Volume 156, Issue 2, 28 Pages 151 – 160; <http://www.sciencedirect.com/science/journal/00220981>, pristupljeno 15. rujna 2017.
- Lesjak M. 2015., Presvlačenje člankonožaca (Arthropoda), Završni rad, Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
- Matonićkin I., Klobučar G., Kućinić M. 2010., Opća zoologija, Školska knjiga, Zagreb, str. 150-154.
- Milišić N. 2008. Jadranski rakovi deseteronošci, Marjan tisak d.o.o., Split, str. 8-12, 85-86.
- WIKI 2017. *Clibanarius erythropus* https://en.wikipedia.org/wiki/Clibanarius_erythropus, pristupljeno 20. rujna 2017.

ANTIOKSIDANSIMA PROTIV MUTACIJA

Karla Milotić, 8. razred

Nina Milotić, 8. razred

OŠ Vladimira Nazora, Pazin

Mentor: Maja Curić

SAŽETAK

Ovim istraživanjem željelo se utvrditi kako antioksidansi, poput vitamina C, propolisa i kurkume, utječu na smanjenje učestalosti mutacija nastalih radi štetnog djelovanja zračenja mobitela. Istraživanje je provedeno na divljim vinskim mušicama koje su izložene zračenju. Skuhano je 8 podloga od kojih su četiri bile izložene zračenju mobitela i četiri koje nisu bile izložene zračenju mobitela. Izdvojene su dvije podloge koje su bile kontrolne podloge, a u ostalih 6 dodani su vitamin C, propolis i kurkuma. Mušice su omamljene eterom, određen im je spol i praćena pojava mutacija. Kroz tri uzgojene generacije dobivene su različite mutacije i različiti omjeri brojnosti mužjaka i ženki. Utvrđeno je da zračenje štetno utječe na razvoj vinskih mušica i njihovu brojnost. Ženke su bile otpornije na zračenje mobitela te ih se razvilo više u odnosu na mužjake u podlogama koje su bile izložene zračenju mobitela, dok se u podlogama koje nisu bile izložene zračenju razvio podjednak broj mužjaka i ženki. Na brojnost jedinki utjecala je ljepljivost podloga s vitaminom C i propolisom, kao i plin ugljikov dioksid (CO₂) koji se razvio ispod podloga s propolisom i kurkumom. Hipoksija (nedostatak kisika) je također znatno utjecala na brojnost jedinki vinske mušice.

Ključne riječi: vinska mušica, zračenje, vitamin C, kurkuma, propolis

UVOD

Antioksidansi su tvari koje prisutne u malim koncentracijama sprječavaju tj. usporavaju proces oksidacijskog kvarenja hrane, a mogu biti prirodni i sintetski (Kostelac, 2014). Antioksidansi štite organizam od prooksidativnog djelovanja na više načina: smanjenjem oksidativne sposobnosti prooksidansa i inhibicijom oksidativnih enzima (Segundo i sur., 2007). Antioksidansi nastaju u stanici ili se u organizam unose hranom. Dakle, funkcija antioksidansa je neutralizacija slobodnih radikala i zaštita stanice od njihovog toksičnog djelovanja čime se sprječava pojava i razvoj bolesti, vezanih za oksidativni stres (Vehtersbah-Stojan, 2015). Vitamin C je poznat kao jaki antioksidans, a zabilježeno je i njegovo prooksidativno djelovanje. Vitamin C smanjuje oštećenja na DNA bakterijskom soju *E. coli* uzrokovana oksidacijom i mutagenozom (Nikolić i sur., 2006). Kurkumin smanjuje oksidacijski stres i time ublažava posljedice ozljede leđne moždine, epileptične napadaje i gubitak neurona. Njegova se aktivnost zasniva na uklanjanju reaktivnih kisikovih i dušikovih spojeva u matriksu mitohondrija (Chang i sur., 2014). Propolis i pelud pripadaju skupini prirodnih tvari životinjskoga i biljnoga podrijetla, s osobito izraženim antioksidativnim i antimikrobnim svojstvima (Klarić, 2014).

U novoj telekomunikacijskoj eri sve češće se postavlja pitanje o sigurnosti ili štetnosti i nepoželjnim učincima neionizirajućeg zračenja mobilnih uređaja i baznih stanica (Chou i sur., 1992). Izrađene su brojne studije na temu štetnosti neionizirajućeg zračenja, no ni jedna studija do sada nije definitivno dokazala štetnost, a niti jedna sa sigurnošću nije potvrdila da je neionizirajuće zračenje bezopasno (Gandhi, 2009). Unatoč svemu, broj korisnika mobilnih uređaja i dalje raste, stoga će se utjecaj zračenja mobilnih uređaja na ljudski organizam (posebno mozak) statistički sve lakše uočavati. Upotreba mobilnih uređaja u svakodnevnom životu postaje neizbježna, kako u poslovnom životu tako i u privatnom (Pejnović, 2009).



Oduvijek su nas zanimale prirodne znanosti, a posebice biologija te smo odlučile u osmom razredu napraviti rad iz biologije. Zanimale su nas mutacije i modifikacije o kojima smo učili na početku osmog razreda. Istraživanjem literature zaključile smo da je vinska mušica najpogodnija za proučavanje promjena na području genetike. Vinska mušica veže se uz razvoj klasične i suvremene genetike. Pogodan je organizam za upoznavanje bioloških pojava i procesa iz područja razmnožavanja, utjecaja bioloških čimbenika, promjenjivosti i nasljeđivanja te se koristi u genetičkim istraživanjima još od 1909. otkad ju je uveo Thomas H. Morgan. U svojim ju je pokusima koristio i Hermann J. Muller koji je dokazao da X-zrake uzrokuju fenotipske promjene u vinskih mušica. Vinska mušica čije je znanstveno ime *Drosophila melanogaster* maleni je kukac, dužine 2-3 mm. Naziv joj potječe od latinskih riječi koje označavaju organizam koji voli vlagu, rosu i ima tamni zadak. Većina vrsta živi u tropskoj i suptropskoj zoni, a do sada je otkriveno preko 1200 vrsta ovog dvokrilca. Slab je letač, no to je ne sprječava da se prateći čovjeka, transportom voća širi u gotovo sva područja svijeta te postaje kozmopolit. Tijekom dana udalji se najviše do 180 m. Vinska mušica je u stvari voćna mušica, jer nju privlači opojan miris zgnječenih slatkih plodova grožđa, smokve, rajčice i dr. Prema Matoničkinu i Erbenu (1994.) životni vijek mušica iznosi ljeti pet do osam dana, a zimi je znatno duži. Voli toplinu (optimalno 24 – 27 °C), ali ženka već i kod temperature od 13 °C kontinuirano nosi do 2 000 jajašca iz kojih se izlegnu nove mušice. Izravno sunčevo svjetlo joj smeta i zato se više razmnožava u zasjenjenim prostorijama. Odrasle vinske mušice hrane se gljivicama alkoholnog vrenja, a njihove ličinke voćem i sokovima koji previru. Osnovne tvari u svakoj hranjivoj podlozi zato moraju biti kvasac i šećer. Dodavanjem agara podloga postaje homogena, dovoljno suha da se mušice ne zalijepe. Zbog brzog razmnožavanja, boje očiju i uočenih spolno vezanih svojstava koristi se u genetskim znanstvenim pokusima.

Postoji niz razloga zašto je vinska mušica pogodni organizam za provođenje genetskih istraživanja (Pavlica i sur., 2013):

- Maleni je kukac, dužine oko 3 mm.
- Lako se uzgaja u velikom broju u laboratoriju uz mala materijalna sredstva.
- Kratkog životnog ciklusa – potrebno je oko 2 tjedna (10 dana u optimalnim uvjetima) da se proizvede nova generacija odraslih jedinki vinskih mušica.
- Veliki broj potomaka – ženka tijekom svoga života može položiti tisuće jajašca što čini statističku obradu podataka pouzdanom i lakom zbog velikog broja jedinki.
- Embrij se razvija izvan tijela ženke te je lako proučavati svaku fazu razvoja.

Ženke vinske mušice su veće od mužjaka, a njihov zadak završava šiljato. Na leđnoj strani vidi se 5 - 6 vodoravnih tamnih pruga. Mužjaci su manji te na zatku imaju dvije pruge i tamni obli završetak zatka (slika 1 i tablica 1). Na prednjim nogama samo mužjaci imaju spolni češalj, vidljiv na malom povećanju mikroskopa kao crna točka.



Slika 1 Spolni dimorfizam vinskih mušica mužjak (lijevo) i ženka (desno) (izvor: Pavlica (slika 1 i tablica 1), <http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr/7/Slike/7.1.a..png>)

Tablica 1 Sekundarne spolne osobine mužjaka i ženke vinske mušice (izvor: Pavlica), <http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr/>

Mužjak	Ženka
Manji	Veća
Zaobljen zadak	Zašiljen zadak
Distalni dio zatka tamno obojen	Na distalnom dijelu zatka tamne i svijetle pruge
Na prvom paru nogu češalj za prihvatanje na ženku pri kopulaciji	Nema češlja na prvom paru nogu
Kopulatorni organi između dva genitalna nabora	Vanjsko genitalno polje s leglicom

Cilj ovog istraživanja je utvrditi koliko zračenje mobitela utječe na učestalost mutacija odnosno pojavu fenotipskih promjena (promjena boje tijela i očiju, izdužen zadak, zakržljala krila) u vinskih mušica i pratiti učinak različitih antioksidansa (propolis, vitamin C i kurkuma) na pojavu raznih mutacija i omjer broja mužjaka i ženki u vinske mušice.

Pretpostavka je da se primjenom raznih prirodnih sredstava (propolis, vitamin C i kurkuma) može smanjiti učestalost mutacija kod vinskih mušica. Također, pretpostavlja se da će zračenje povećati učestalost mutacija, kao i promjenu u omjeru broja mužjaka i ženki. Rezultati će biti statistički obrađeni (izračunate srednje, minimalne i maksimalne vrijednosti) te grafički prikazani.

METODE RADA

Istraživanje je započeto u rujnu 2017. godine, a istraživane su pojave iz područja genetike. Ovim istraživanjem željelo se utvrditi može li se antioksidansima smanjiti učestalost mutacije koje nastaju u vinskih mušica pod utjecajem zračenja mobitela. Plan istraživanja sastojao se od: hvatanja vinskih mušica, određivanja spola i raspoređivanja u hranjive podloge, praćenja utjecaja zračenja mobitela i pokušaja smanjivanja učestalosti mutacija vinskih mušica raznim prirodnim sredstvima poput vitamina C, propolisa i kurkume.

U staklenku je stavljeno trulo voće i nakon nekoliko dana staklenka je prekrivena gazom i čepom koji je prije toga probušen. Staklenke su odnesene u kabinet biologije u našoj školi gdje je nastavljeno istraživanje.

Vinske mušice su omamljene eterom (slika 2). Mušicama je određen spol promatranjem pomoću lupe. Lupa korištena u ovom istraživanju bila je marke BRESSER, a ukupno povećanje pod kojim smo promatrale mušice bilo je 20 x.



Slika 2 Omamljivanje vinskih mušica eterom

Nakon određivanja spola, vinske mušice su raspoređene u parovima (dva do tri para) u nove staklenke s hranjivim podlogama 24 sata nakon kuhanja podloga. Hranjive podloge na kojima smo pratile razvoj vinskih mušica napravljene su tako da je u staklenke volumena 0,2 L dodano 30 mL vode, 5 g palente,



5 g šećera i 0,15 g kvasca (tablica 2), što je bila kontrolna podloga (prilagođeno prema Pavlica i sur., 2013).

Tablica 2 Broj i sastav podloga

Broj podloge	Sastav podloge
Podloga br. 1 (kontrolna podloga)	30 mL vode, 5 g palente, 5 g šećera i 0,15 g kvasca
Podloga br. 2 (podloga + vitamin C)	30 mL vode, 5 g palente, 5 g šećera i 0,15 g kvasca + 3 mL vodene otopine vitamina C (1 šumeću tabletu vitamina C (yasenka, sadrži 1000mg vitamina C) rastopile smo u 1 dL vode i uzele 3 ml takve otopine)
Podloga br. 3 (podloga + propolis)	30 mL vode, 5 g palente, 5 g šećera i 0,15 g kvasca + 3 kapi svježeg kupovnog pripravka propolisa
Podloga br. 4 (podloga + kurkuma)	30 mL vode, 5 g palente, 5 g šećera i 0,15 g kvasca (A LESAFFRE) + 1 g kurkume

Nakon pripreme podloga i uspostave matične populacije vinskih mušica uzgojena je populacija vinskih mušica koja je od početka bila izložena zračenju mobitela. Zračenje mobitela najjače je prilikom uspostave poziva zato je uz staklenku u kojoj su se razvijale vinske mušice stavljen mobitel modela Samsung Galaxy Core Prime koji je nazivan od 9 sati ujutro do 20 sati navečer svakih sat vremena u trajanju 30 sekundi. Na taj način vinske mušice su bile izložene visokoj dozi zračenja mobitela koje se nije moglo direktno mjeriti, ali su pronađeni podatci o količini zračenja koju emitira ta vrsta mobitela (SAR vrijednost 0.389 W/kg). SAR je mjera količine energije koju upije tijelo koje je izloženo radijskim frekvencijama elektromagnetskog polja. Definirana je kao energija apsorbirana po masi tkiva i ima jedinicu vati po kilogramu (W/kg).

Ponovno su pripremljene iste hranjive podloge koje su raspoređene u 4 staklenke (tablica 3) (kontrolna podloga, podloga + vitamin C, podloga + propolis, podloga + kurkuma) na kojima su se dalje razvijale vinske mušice koje su od uspostave kulture bile izložene zračenju mobitela. Kako bi i dalje bile izložene zračenju, mobitel je nazivan svakog sata u razdoblju jednog tjedna, a zatim su njihovi potomci (dva – tri para) raspoređeni na 4 nove hranidbene podloge koje su ponovno bile izložene zračenju mobitela.

Ovim istraživanjem željelo se utvrditi utječe li zračenje mobitela na pojavu fenotipskih promjena (boja očiju i boja tijela, veličina tijela i oblik krila) na vinskim mušicama, brojnost njihovih potomaka, kao i na omjer broja mužjaka i ženki. Rezultati su statistički obrađeni, izračunate su minimalne i maksimalne vrijednosti, uspoređeni s rezultatima na kontrolnim podlogama (broj jedinki u kontrolnoj podlozi podijeljen s brojem jedinki u drugim podlogama) te grafički prikazani. Pokusi su ponavljani tri puta i praćen je razvoj vinskih mušica kroz tri generacije nakon čega je izračunata srednja vrijednosti (broj jedinki na svakoj podlozi zbrojen je i podijeljen s brojem ponavljanja).

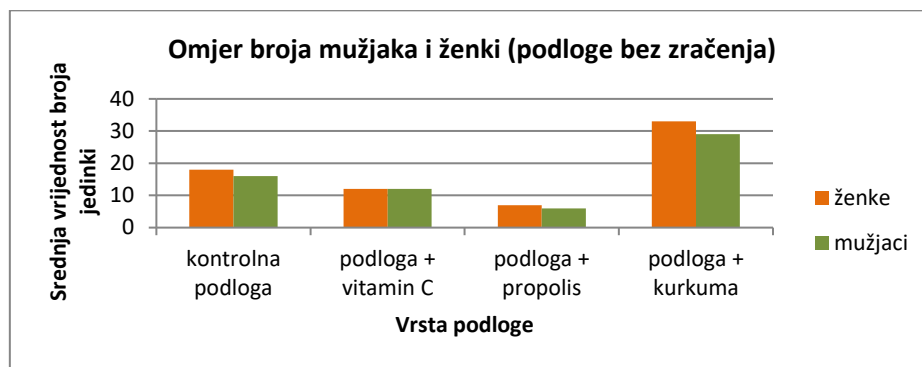
Tablica 3 Broj i sastav podloge

Broj podloge	Sastav podloge
Podloga br. 1 (kontrolna podloga)	30 mL vode, 5 g palente, 5 g šećera i 0,15 g kvasca
Podloga br. 2 (podloga + vitamin C)	30 mL vode, 5 g palente, 5 g šećera i 0,15 g kvasca + 3 mL vodene otopine vitamina C (1 šumeću tabletu vitamina C (yasenka, sadrži 1000mg vitamina C) rastopile smo u 1 dL vode i uzele 3 ml takve otopine)
Podloga br. 3 (podloga + propolis)	30 mL vode, 5 g palente, 5 g šećera i 0,15 g kvasca + 3 kapi kupovnog pripravka propolisa
Podloga br. 4 (podloga + kurkuma)	30 mL vode, 5 g palente, 5 g šećera i 0,15 g kvasca (A LESAFFRE) + 1 g kurkume

Uspoređen je broj jedinki na svim podlogama u odnosu na broj jedinki u kontrolnoj posudi, također je na isti način bilježen i uspoređivan omjer broja mužjaka i ženki na svim podlogama u odnosu na kontrolnu podlogu, kao i sve fenotipske promjene (promjena boje tijela i očiju, izdužen zadak, zakržljala krila) na vinskih mušicama. Učestalost mutacija izračunale smo tako da smo izračunale postotni udio jedinki s mutacijama (fenotipske promjene) koje su se razvile na pojedinoj podlozi. Radi lakšeg shvaćanja i objašnjenja rezultata praćene su i promjene (ljepljivost i pojava plina) koje su se događale s podlogama na kojima su se razvijale vinske mušice.

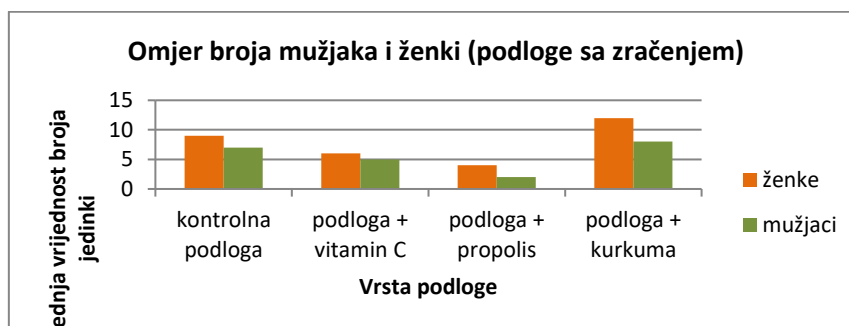
REZULTATI

Našim istraživanjem dobiveni su sljedeći rezultati. Budući da su u sve tri generacije dobiveni slični rezultati (bez većih odstupanja u odnosu na broj mužjaka i ženki) prikazane su srednje vrijednosti broja jedinki na svim podlogama (slika 3 i 4).



Slika 3 Omjer broja mužjaka i ženki u podlogama u kojima su se razvijale vinske mušice koje nisu bile izložene zračenju

Na svim podlogama razvio se podjednak omjer broja ženki i mužjaka. Na kontrolnoj podlozi razvilo se 18 ženki i 16 mužjaka, a nešto manji broj oba spola na podlozi s vitaminom C (12 ženki i 12 mužjaka). Veća odstupanja uočena su na podlogama s propolisom i kurkumom. Na podlozi s propolisom razvilo se svega 7 ženki i 6 mužjaka, što je 2,57 puta manje u odnosu na broj ženki iz kontrolne podloge te 2,66 puta manje mužjaka u odnosu na kontrolnu podlogu. Na podlozi s kurkumom razvilo se 33 ženki i 29 mužjaka, što je 1,83 puta više ženki u odnosu na broj ženki u kontrolnoj podlozi i 1,81 puta više mužjaka u odnosu na kontrolnu podlogu.



Slika 4 Omjer broja mužjaka i ženki u podlogama u kojima su se razvijale vinske mušice koje su bile izložene zračenju

Na svim podlogama koje su zračene razvio se nešto veći broj ženki (slika 4). Na kontrolnoj podlozi razvilo se 9 ženki i 7 mužjaka, a nešto manje na podlozi s vitaminom C (6 ženki i 5 mužjaka). Veća

odstupanja uočena su na podlogama s propolisom i kurkumom. Na podlozi s propolisom razvile su se svega četiri ženke i dva mužjaka, što je 2,25 puta manje u odnosu na broj ženki iz kontrolne podloge te 3,50 puta manje mužjaka u odnosu na kontrolnu podlogu. Na podlozi s kurkumom razvilo se 12 ženki i 8 mužjaka, što je 1,33 puta više ženki u odnosu na broj ženki u kontrolnoj podlozi i 1,14 puta više mužjaka u odnosu na kontrolnu podlogu.

Također je vidljivo da se na podlogama u kojima su se razvijale vinske mušice koje nisu bile izložene zračenju mobitela razvilo ukupno 70 ženki i 63 mužjaka, dok se na podlogama u kojima su se razvijale vinske mušice koje su bile izložene zračenju mobitela razvila 31 ženka i 22 mužjaka. Na podlogama u kojima su se razvijale vinske mušice koje su bile izložene zračenju mobitela razvilo se 2,25 puta manje ženki i 2,86 puta manje mužjaka u odnosu na podloge u kojima su se razvijale vinske mušice koje nisu bile izložene zračenju mobitela.

Mutacije (fenotipske promjene) pronađene su isključivo na podlogama na kojima su se razvijale vinske mušice koje su bile izložene zračenju mobitela (tablica 4).

Tablica 4 Broj i vrsta mutacija (fenotipskih promjena) vinskih mušica na podlogama na kojima su se razvijale vinske mušice koje su bile izložene zračenju mobitela

	Kontrolna podloga	Podloga s vitaminom C	Podloga s propolisom	Podloga s kurkumom
Ukupan broj jedinki	48	33	18	60
Broj mutacija	2	1	2	4
Broj vinskih mušica s mutacijom	2		1	3
Boja tijela	svjetlije tijelo		tamnije tijelo	crno tijelo
Boja očiju			crveno – ljubičaste oči	grimizne oči
Oblik i veličina krila		savijena krila		zakržljala krila
Veličina tijela	veće tijelo			veće tijelo
Učestalost mutacija	4,16 %	3,03 %	5,55 %	5 %

Na kontrolnoj podlozi razvilo se 48 jedinki vinskih mušica, a pojavile su se dvije vinske mušice s gotovo dvostruko većom veličinom tijela i svjetlijim tijelom (slika 6) što pokazuje da je učestalost mutacija na kontrolnoj podlozi 4,16 %.



Slika 5 Vinska mušica sa svjetlijim tijelom i vinska mušica s dvostruko većom veličinom tijela

Na podlozi s vitaminom C razvilo se 33 jedinki vinskih mušica, a pojavila se jedna vinska mušica sa savijenim krilima (slika 6) što pokazuje da je učestalost mutacija na toj podlozi 3,03 %.



Slika 6 Vinska mušica sa savijenim krilima

Na podlozi s propolisom razvilo se 18 jedinki vinskih mušica, a pojavila se jedna vinska mušica s tamnijim tijelom i crveno-ljubičastim očima (slika 7) što pokazuje da je učestalost mutacija na toj podlozi 5,55 %.



Slika 7 Vinska mušica s crnim tijelom i grimiznim očima

Na podlozi s kurkumom razvilo se 60 jedinki vinskih mušica, a pojavile su se tri vinske mušice sa zakržljanim krilima, crnim tijelom i grimiznim očima te vinska mušica s gotovo dvostrukom veličinom tijela (slika 8) što pokazuje da je učestalost mutacija na toj podlozi 5 %.



Slika 8 Vinska mušica sa zakržljanim krilima, vinska mušica s gotovo dvostrukom većom veličinom tijela i vinska mušica s tamnijim tijelom i crveno – ljubičastim očima

Podloge s vitaminom C i propolisom imale su veću ljepljivost, dok se na podlogama s propolisom i kurkumom razvio plin ugljikov dioksid. Veća ljepljivost podloge značila je da su se vinske mušice koje su bile u dodiru s hranjivom podlogom za nju često zalijepile, a ličinke koje najprije borave na površini podloge, a zatim u nju ulaze također su često ostale zarobljene u hranjivoj podlozi (tablica 6). Plin se cijelo vrijeme razvijao zbog fermentacije šećera (nastajao je CO_2), ali je uočeno da se u nekim hranjivim



podlogama razvijao ispod podloge te je podignuo hranjivu podlogu. Nedugo nakon otvaranja staklenke, hranjiva podloga bi se spustila, a plin izašao. Niti na jednoj kontrolnoj podlozi nismo uočile veću ljepljivost kao ni pojavu plina ispod podloge.

RASPRAVA

U prvom dijelu istraživanja praćen je učinak različitih antioksidansa (propolis, vitamin C i kurkuma) na pojavu raznih mutacija i omjer broja mužjaka i ženki u vinske mušice. Pretpostavka je bila da se primjenom raznih prirodnih sredstava (propolis, vitamin C i kurkuma) može smanjiti učestalost mutacija kod vinskih mušica.

Na svim hranjivim podlogama na kojima su se razvijale vinske mušice, koje nisu bile izložene zračenju mobitela, razvio se gotovo podjednak broj ženki i mužjaka što je u skladu s našim očekivanjima. U prirodi se razvija podjednak broj mužjaka i ženki. U odnosu na kontrolnu podlogu, na podlozi s vitaminom C i propolisom razvilo se manje jedinki, dok se na podlozi s kurkumom razvilo više jedinki oba spola. Brojnost jedinki na podlozi s vitaminom C i propolisom se smanjila zbog ljepljivosti podloge. Brojnost jedinki na podlozi s propolisom također se smanjila zbog nastalog plina ispod hranjive podloge.

Kao što je navedeno u rezultatima, velik broj jedinki vinskih mušica, kao i njihovih ličinki, ostao je zalijepljen na podlozi, samim time ličinke se nisu mogle razvijati, a odrasle jedinke se nisu mogle razmnožavati. Pojava plina ugljikovog dioksida (CO_2) značila je smanjenje količine kisika (O_2), a u uvjetima nedostatka kisika (odnosno hipoksije) razvija se manji broj jedinki što je u skladu s istraživanjima koje su proveli Vigne i Frelin (2010.). Oni opisuju brojne promjene na mušicama, kao i promjene u ponašanju i prehrani zbog uvjeta hipoksije.

Iako se u podlozi s kurkumom također razvio plin, ispod hranjive podloge došlo je do povećanja broja jedinki zbog pozitivnog utjecaja kurkume. Na toj podlozi u početku se pojavio plin ispod hranjive podloge koji je ubrzo nakon otvaranja staklenke izašao. Otvaranjem staklenki i izlaskom plina ispod podloge stvaraju se povoljni uvjeti za razvoj vinskih mušica te se broj jedinki znatno povećao u odnosu na kontrolu. Iz toga zaključujemo da kurkuma pozitivno djeluje na brojnost i razvoj vinskih mušica. Chang i sur. (2014.) svojim istraživanjem došli su do zaključka da kurkumin (sastojak kurkume) uklanja reaktivne spojeve kisika i dušika te ublažava posljedice ozljede leđne moždine, epileptične napadaje i slično.

U drugom dijelu istraživano je koliko zračenje mobitela utječe na promjenu u omjeru broja mužjaka i ženki te na učestalost mutacija odnosno fenotipskih promjena (promjena boje tijela i očiju, izdužen zadak, zakrčljala krila) u vinskih mušica. Također je praćen učinak različitih antioksidansa (propolis, vitamin C i kurkuma) na pojavu raznih mutacija.

Pretpostavka je bila da se primjenom raznih prirodnih sredstava (propolis, vitamin C i kurkuma) može smanjiti učestalost mutacija kod vinskih mušica. Također smo pretpostavile da će zračenje povećati učestalost mutacija kao i promjenu u omjeru broja mužjaka i ženki. Na svim hranjivim podlogama na kojima su se razvijale vinske mušice koje su bile izložene zračenju mobitela razvio se nešto veći broj ženki. Na kontrolnoj podlozi razvilo se 9 ženki i 7 mužjaka, a nešto manje na podlozi s vitaminom C.



Iako smo očekivali pozitivno djelovanje vitamina C na vinske mušice, rezultati nisu potvrdili očekivanja zbog ljepljivosti podloge. Brojne ličinke nisu se uspjele razviti jer su se zalijepile za podlogu. Razvoj vinske mušice počinje izlaskom ličinke iz jajeta, ličinke najprije borave na površini podloge te zatim ulaze u podlogu (Pavlica i sur., 2013).

Veća odstupanja u omjeru mužjaka i ženki u odnosu na kontrolnu podlogu uočile smo na podlogama s propolisom i kurkumom. Na podlozi s propolisom razvilo se manje ženki i manje mužjaka u odnosu na kontrolnu podlogu. Naša očekivanja su bila da će propolis smanjiti učestalost mutacija kod vinskih mušica koje su bile izložene zračenju mobitela te da će se omjer broja mužjaka i ženki izjednačiti. Međutim zbog izuzetne ljepljivosti podloge, odrasle vinske mušice, kao i brojne ličinke, ostale su zarobljene u podlozi što ih je spriječilo u prehrani i razvoju. Odrasle vinske mušice hrane se gljivicama alkoholnog vrenja, a njihove ličinke voćem i sokovima koji previru. Osnovne tvari u svakoj hranjivoj podlozi zato moraju biti kvasac i šećer. Dodavanjem agara podloga postaje homogena, dovoljno suha da se mušice ne zalijepe (Pavlica i sur., 2013). Zbog ljepljivosti podloge nije se mogao utvrditi stvaran utjecaj propolisa na vinske mušice. Potrebna su daljnja istraživanja da se utvrdi stvaran učinak, ali je prvo potrebnopoboljšati kvalitetu podloge te smanjiti njenu ljepljivost.

Na podlozi s kurkumom razvilo se više ženki i više mužjaka u odnosu na kontrolnu podlogu. Uočeno je da kurkuma potiče razvoj većeg broja jedinki vinske mušice, a također potiče razvoj više ženki nego mužjaka.

Na podlogama u kojima su se razvijale vinske mušice koje nisu bile izložene zračenju mobitela razvilo se ukupno 70 ženki i 63 mužjaka, dok se na podlogama u kojima su se razvijale vinske mušice koje su bile izložene zračenju mobitela razvilo znatno manje ženki i mužjaka. Time je potvrđena pretpostavka da zračenje mobitela štetno djeluje na brojnost jedinki vinske mušice. Zbog većeg broja ženki koje su se razvile na svakoj hranjivoj podlozi koje su bile izložene zračenju mobitela može se zaključiti da su ženke otpornije na nepovoljne uvjete te da veći broj ženki znači bolji opstanak vrste. Izrađene su brojne studije na temu štetnosti neionizirajućeg zračenja, no ni jedna studija do sada nije definitivno dokazala štetnost, ali ni bezopasnost zračenja (Gandhi, 2009).

U našem istraživanju mutacije (fenotipske promjene) su pronađene isključivo na podlogama na kojima su se razvijale vinske mušice koje su bile izložene zračenju mobitela, što govori u prilog štetnosti zračenja mobitela. Na kontrolnoj podlozi razvilo se 48 jedinki vinskih mušica, a učestalost mutacija bila je 4,16 %. Primijećeno je da je učestalost mutacija nešto manja jedino na podlozi s vitaminom C, dok je na ostalim podlogama nešto viša od one na kontrolnoj podlozi. To je u skladu s istraživanjem u kojem je vitamin C smanjio oštećenja DNA bakterijskom soju *E. coli* uzrokovana oksidacijom i mutagenozom (Nikolić i sur., 2006).

Glavni problem istraživanja je bio što su se vinske mušice lijepile na podlogu pa se velik broj njih nije uspio razviti (bilo u stadiju ličinke ili kao odrasle jedinke). Nije preživio dovoljan broj jedinki kako bi rezultat bio statistički značajante se stoga ne može sa sigurnošću tvrditi da vitamin C smanjuje učestalost mutacija, niti da ih propolis i kurkuma povećavaju.



Potrebna su daljnja i preciznija istraživanja kako bi se utvrdio pravi učinak ovih tvari na učestalost mutacija u vinske mušice. Za daljnja istraživanja predlažemo uporabu različitih količina vitamina C, propolisa i kurkume te dodatak neke tvari poput agara koja bi smanjila ljepljivost hranjive podloge. Na taj bi se način moglo kvalitetnije utvrditi stvarni utjecaj vitamina C, propolisa i kurkume na razvoj, brojnost, omjer broja mužjaka i ženki te učestalost mutacija u vinske mušice.

ZAKLJUČCI

Tijekom istraživanja zaključeno je:

- ✿ U uvjetima bez zračenja mobitela razvio se podjednak broj ženki i mužjaka.
- ✿ Na podlogama s vitaminom C i propolisom razvio se manji broj jedinki zbog ljepljivosti podloge.
- ✿ U uvjetima hipoksije razvio se manji broj jedinki vinske mušice.
- ✿ Kurkuma potiče razvoj većeg broja vinskih mušica.
- ✿ Zračenjem mobitela smanjila se brojnost vinskih mušica.
- ✿ Uslijed zračenja mobitela razvio se znatno veći broj ženki nego mužjaka.
- ✿ Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se utvrdilo stvarno djelovanje vitamina C, propolisa i kurkume.
- ✿ Vitamin C smanjio je učestalost pojave mutacija u vinske mušice.

LITERATURA

- Chang C.-H., Chen H.-X., Yü G., Peng C.-C., Peng R. Y., 2014. Curcumin-Protected PC12 Cells Against Glutamate-Induced Oxidative Toxicity. *Food Technology and Biotechnology*, 52.
- Chou C. K., Guy A. W., Kunz L. L., Johnson R. B., Crowley J. J., Krupp J. H., 1992. Long-term, low-level microwave irradiation of rats. *Bioelectromagnetics*, 469-496.
- Gandhi O., 2009. Antennas and Propagation Magazine. <http://www.live-care.net/cellular-cancer.htm>, pristupljeno 4. 12. 2017.
- Klarić I., 2014. Proizvodni i zdravstveni učinci propolisa i pčelinje peludi kao dodataka hrani tovni pilića, *Poljoprivreda*, 20, 2.
- Kostelac I., 2014. Proizvodnja i stabilizacija hladno prešanog ulja iz koštice marelice, <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:157389>, pristupljeno 5. 12. 2017.
- Matonićkin I., Erben R. 1994. Opća zoologija. Školska knjiga, Zagreb, 282 – 290.
- Nikolić B., Stanojević, J., Vuković-Gačić B., Simić D., Knežević-Vukčević J. 2006. Utjecaj vitamina C na oštećenja DNA uzrokovanu oksidacijom i mutagenom, *Food Technology and Biotechnology*, 44.
- Pavlica M., Zoldoš V., Horvat T., Malenica N., Mlinarec J., Vičić V. 2013. Praktikum iz genetike, <http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr/7/Slide/7.1.a..png>, pristupljeno 4. 12.2017.
- Pejnović N., 2009. Utjecaj bežičnih tehnologija na ljudsko zdravlje, *Sigurnost: časopis za sigurnost u radnoj i životnoj okolini*, 51.
- Segundo M., Magalhães L., Reis S., 2007., Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Anal Chim Acta.*, 613, 1-19.
- Vehtersbah-Stojan P., 2015. Antioksidansi u aterosklerozi, <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:439178>, pristupljeno 5. 12. 2017.
- Vigne P., Frelin C. 2010, Hypoxia modifies the feeding preferences of *Drosophila*. Consequences for diet dependent hypoxic <https://bmcpphysiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6793-10-8>, pristupljeno 2.3.2018.

KUĆNI LJUBIMCI ISPRED OGLEDALA

Nadja Novak, 8. razred
Sara Trnovčanec, 8. razred

Osnovna škola Strahoninec, Strahoninec
Mentor: Nataša Pongrac

SAŽETAK

Istraživanje je temeljeno na ispitivanju samosvijesti, odnosno samoprepoznavanju kućnih ljubimaca pred ogledalom čime se mjeri njihova inteligencija. U tu svrhu korištena je metoda "test ogledala" koju je osmislio i prvi primijenio Gordon Gallup. Životinja se ostavi pred ogledalom neko vrijeme i promatra se određeni oblik ponašanja poput njuškanja vlastitog odraza, približavanja ogledalu, mahanja repom i drugo. Osnovni ciljevi istraživanja utemeljeni su na promatranju gore navedenih ponašanja kojima se nastoji utvrditi prepoznaju li životinje svoj odraz u ogledalu, prepoznaju li neko "novo" obilježje na sebi te mogu li uočiti odraz omiljene igračke ili odraz zdjelice s hranom u ogledalu. Kućni ljubimci kojima se određivala razina samosvijesti su kunići, psi mješanci i domaće mačke, od svake navedene vrste po tri jedinke. Testiranje je ponavljano u tri ciklusa kako bi dobiveni rezultati bili što vjerodostojniji. Rezultati su iskazani na dva načina. Prvom obradom rezultata iskazan je ukupan broj reakcija na određeni oblik ponašanja, primjerice njuškanja odraza u ogledalu, za svaku testiranu jedinku u prve dvije minute te u trećoj i četvrtoj minuti objedinjeno u sva tri ciklusa mjerenja. Daljnjom obradom iskazani su ukupni rezultati za sve jedinke iste vrste, također iz sva tri ciklusa mjerenja u istim vremenskim intervalima koji su prethodno navedeni. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da mačke imaju najjače razvijenu samosvijest, slijede ih psi s neznatno nižom razinom, a kod kunića je dokazano da samosvijest postoji, ali je znatno manje razvijena.

Ključne riječi: samosvijest, samoprepoznavanje, inteligencija kućnih ljubimaca

UVOD

Kod ljudi je promatranje samog sebe u ogledalu sasvim normalan dio svakodnevnice i mi ne razmišljamo o tome tko bi to u ogledalu mogao biti. Dijete se tijekom prve godine smiješi i vokalizira na svoj odraz u ogledalu, ali te reakcije ne znače da je sposobno za samoprepoznavanje, niti da je svjesno da će svojim pokretima izazvati promjenu odraza (Starc i sur., 2004). Prema Vasta i sur. (2005) mnoga djeca oko druge godine pokazuju povećanu svijest o sebi upotrebom zamjenica ja ili moje, no ono što je privuklo veliki broj istraživača jest dječja sposobnost prepoznavanja vlastitog izgleda. U dobi od dvije godine pojavljuje se pouzdano samoprepoznavanje u ogledalu, dijete zna svoje ime, zna je li dječak ili djevojčica, zna da je dijete, a ne odrasla osoba (Starc i sur., 2004). Promatranje svoga odraza životinjama nikako nije svakodnevnica jer ogledalo u prirodi nije normalna pojava i životinje se rijetko susreću sa svojom vlastitom slikom (Bjedov, 2011).

Svijest o samome sebi smatra se naprednom intelektualnom sposobnošću koja je moguća samo ako su razvijeni frontalni režnjevi mozga. Na temelju ove pretpostavke nekoliko je znanstvenika izradilo testove za određivanje samosvijesti životinja. Jedan od najpoznatijih je „test ogledala“ psihologa Gordona Gallupa. Metodu je razvio 1970. godine u svrhu određivanja sposobnosti samospoznaje kod životinja (Dolores, 2017). Ovim testom se kod životinja mjeri inteligencija, točnije njihova samosvjesnost, koja je pokazatelj razvijenijih kognitivnih sposobnosti. No, kako točno dokazati da su pojedine životinje samosvjesne tj. da li mogu raspoznati svoj odraz u ogledalu? Test je vrlo jednostavan. Životinja se ostavi sama s ogledalom i promatraju se njene reakcije. Najčešće se događaju reakcije koje su pokazatelj prepoznavanja svog odraza u ogledalu. Do nedavno je bilo poznato da svi čovjekoliki majmuni (*Hominidae*) i dupini (*Delphinidae*) polažu ovaj test. Njima se danas pridružuju i azijski slon (*Elephas maximus*) i kit ubojica (*Orcinus orca*). Uz sve te sisavce grupi samosvjesnih



životinja pridružila se i ptica iz porodice vrana (*Corvidae*). Iako je već poznato da vrane posjeduju određeni nivo inteligencije, danas se zna da svraka (*Pica pica*) također uspješno polaže ovaj test. Za mnoge se životinje još pretpostavlja da su samosvjesne, no smatra se da za njih ovaj test jednostavno nije prikladan. Neke životinje pokazuju još fascinantnije kognitivne sposobnosti. Takav primjer su pripadnici roda gavrana (*Corvus*), koji imaju sposobnost planiranja potpunih radnji unaprijed. Gavrani često skrivaju hranu, prilikom čega ne samo da planiraju unaprijed, već pokazuju i sposobnost staviti se u kožu drugoga. Naime, gavrani prilikom skrivanja hrane paze da ih drugi gavrani ne promatraju, kako im ne bi ukrali hranu. No u slučaju da ih se promatra, oni ne samo da hranu neće sakriti, već su sposobni praviti se da su hranu sakrili na određeno mjesto da bi zavarali promatrača koji će poslije hranu uzalud tražiti (Bjedov, 2011). Dosadašnja znanstvena istraživanja vezana uz ponašanje životinja, odnosno ispitivanje njihove inteligencije i samosvijesti ispred ogledala pomoću Gallupovog „testa ogledala“, vršena su uglavnom na divljim životinjama i isključivo u njihovom prirodnom staništu. U svakom trenutku divlje i domaće životinje, kao i kućni ljubimci, svojim ponašanjem u neposrednom okruženju mogu privući ljudsku pažnju. Sigurno ste se ponekad zapitali: „Prepoznaju li kućni ljubimci svoj odraz u ogledalu? Imaju li razvijenu samosvijest, spoznaju o samom sebi, te da li je ona rezultat njihove inteligencije?“ Nisu pronađeni konkretniji podaci i istraživanja o polaganju Gallupovog testa za određene kućne ljubimce, pogotovo za kuniće i pse, stoga nam se odabir teme ovog istraživačkog rada učinio vrlo zanimljivim i provedivim u kontroliranim uvjetima.

Temeljni cilj istraživanja baziran je na promatranju ponašanja kućnih ljubimaca (mačke, psa i kunića) ispred ogledala i određivanja stupnja njihove samosvijesti odnosno prepoznavanja vlastite slike u ogledalu.

Specifični ciljevi istraživanja jesu odrediti:

- prepoznaje li životinja svoj odraz u ogledalu i kako ga doživljava
- prepoznaje li životinja u ogledalu na sebi neko „novo“ obilježje i kako na njega reagira
- može li životinja uočiti odraz omiljene igračke u ogledalu i kako ju doživljava
- mogu li životinje locirati hranu u svojoj zdjelici preko ogledala koja se nalazi iza njih.

Naše su pretpostavke da će na vlastiti odraz u ogledalu podjednako reagirati svi testirani kućni ljubimci, novo „obilježje“ na glavi mogli bi prepoznati samo psi i mačke, a kunići ne, dok bi omiljenu igračku u ogledalu kao i zdjelicu s hranom mogli prepoznati opet samo psi i mačke te da je kod pasa samosvijest najrazvijenija zbog veće inteligencije u odnosu na mačke i kuniće.

Promatranjem i istraživanjem različitih oblika ponašanja kućnih ljubimaca ispred ogledala dolazimo do novih spoznaja i vrijednih rezultata o postojanju ili ne postojanju samosvijesti odnosno svijesti prepoznavanja „samog sebe“ pred ogledalom. Višekratnim ponavljanjem testova i mijenjanjem „testnih kućnih ljubimaca“ rezultati se mogu dopunjavati i precizirati kako bi bili što točniji i vjerodostojniji.

METODE RADA

Istraživanje je provedeno tijekom siječnja i veljače 2018. godine, u stambenim prostorijama i okućnicama gdje žive kućni ljubimci na kojima je vršeno testiranje. Osnovni je razlog tome da se životinje što manje izlažu stresu i da budu u svom poznatom okruženju koje neće znatnije promijeniti

njihovo ponašanje i time utjecati na dobivene rezultate. Istraživanje je vršeno na sljedećim vrstama kućnih ljubimaca: domaća mačka (*Felis catus*), kunić (*Oryctolagus cuniculus*) i pas mješanac (*Canis familiaris*). Od svake vrste testirane su tri jedinke što znači da je testiranje provedeno na ukupno devet jedinki. Svi testirani kućni ljubimci su odrasle dobi i prije svakog testa bili su redovito hranjeni. Također je važno napomenuti da sve testirane životinje veći dio dana provode u stambenim prostorijama sa svojim vlasnicima.

Metoda korištena u istraživačkom projektu jest metoda „test ogledala“. Prethodno opisana Gallupova metoda opisuje kako životinja isprva pokušava doći u kontakt sa svojim odrazom, nakon čega slijedi pokušaj odlaska iza ogledala. Nakon toga slijedi ponavljanje određenih pokreta i na kraju životinja primjećuje da ustvari gleda vlastiti odraz u ogledalu, a ne neku drugu životinju. Da bi se točno potvrdilo da je životinja stvarno samu sebe prepoznala u ogledalu, test se ponavlja, no ovaj put na malo drugačiji način. Životinji se neprimjetno nacrtala neka vidljiva mrlja na tijelu. U slučaju da se životinja prepozna u ogledalu ona će također u ogledalu prepoznati i mrlju koju će htjeti odstraniti. Prilikom testa bitno je da mrlja bude vidljiva životinji samo kad se pogleda u ogledalo i zato ju se najčešće crta na glavi. U slučaju da je na drugom dijelu tijela životinja ju može uočiti već prije samoga testa. Životinje koje svoj odraz u zrcalu ne raspoznaju najčešće reagiraju agresivno jer misle da vide nepoznatog pripadnika iste vrste i istoga spola. Ovisno o vrsti životinje, reakcije mogu biti u obliku prijeteci napada, raznih glasanja pa sve do potpunog ignoriranja. Gallupova metoda djelomično je modificirana u svrhu provođenja našeg testiranja tako da je ogledalo postavljano u prostore gdje životinje borave, a ne u prirodno vanjsko okruženje (Dolores, 2017). Dakle, nije izrađen jedinstven prostor u koji bi se dovodile sve testirane životinje već je testiranje provedeno u okruženju u kojem one borave kako promjena prostora ne bi imala utjecaja na rezultate i njihovo ponašanje. Na slici 1 prikazana je fotografija ručno izrađenog „test ogledala“ koje se koristilo u testiranju pasa. Ono se sastoji od većeg ograđenog prostora i većeg ogledala koje je postavljeno tako da životinja može otići iza ogledala samo s jedne strane.



Slika 1 „Test ogledalo“ za psa u njegovom prostoru (izvor: Trnovčanec, 2018)

Za ostale kućne ljubimce izrađeni su slični prostori i također postavljena ogledala na opisan način. Testiranje određenog oblika ponašanja svake životinje pred ogledalom raspoređeno je u dva dana i ponavlja se u tri ciklusa u trajanju od četiri minute. Tako je u jednom danu ispitivana sposobnost prepoznavanja vlastitog odraza u ogledalu i „novog“ obilježja na tijelu, a drugi dan mogućnost uočavanja igračke i zdjelice s hranom u ogledalu. U prvom ciklusu testirani kućni ljubimac stavi se u



predviđeni prostor u kojem će boraviti četiri minute. Prvo se ispituje mogućnost prepoznavanja vlastitog odraza u ogledalu na način da se promatra i bilježi (broji) zadano ponašanje (njuškanje, približavanje ogledalu, skidanje oznake šapicama ili ignoriranje), unutar prve dvije minute, a potom u trećoj i četvrtoj minuti. Zatim slijedi test kojim se ispituje mogućnost prepoznavanja „novog“ obilježja i također se prate već navedeni oblici ponašanja na isti način. Time je prvi ciklus završen. Nakon toga životinja se odmara i igra deset minuta. Slijede drugi pa treći ciklus u kojem se testovi ponove na isti način kako bi rezultati bili što pouzdaniji. Drugi dan na isti su način ispitani ostali oblici ponašanja životinje pred ogledalom. Vodio se računa o tome da se životinje ne umore ili ne isprovociraju ili da ne postanu indiferentne prema zadatku jer bi to moglo utjecati na rezultate. Oblici ponašanja koji su promatrani opisani su u metodama koje slijede.

Navedenim metodama nastoji se utvrditi:

- *Prepoznaje li životinja svoj odraz u ogledalu i kako ga doživljava?*
Testirana životinja oprezno je puštena u ograđeni prostor sa „test ogledalom“ i bilježeno je ponašanje na prethodno opisani način. Oblici ponašanja koji su praćeni jesu: približavanje ogledalu radi ostvarivanja kontakta sa svojim odrazom, njuškanje vlastitog odraza ili mahanje repom.
- *Prepoznaje li životinja u ogledalu na sebi neko „novo“ obilježje?*
Životinji se na prednji dio glave zalijepi etiketa ili stavi kvačica i u minutama koje slijede prati se ponašanje životinje, u već prethodno opisanim uvjetima i vremenskim intervalima, odnosno nastoje se utvrditi reakcije životinje na novo obilježje. Ponašanje koje se ovdje, uz već prethodno navedena, još promatra je i da li životinja nastoji nožicama skinuti „novo“ obilježje jer joj smeta ili jer ga uočava u ogledalu.
- *Uočava li životinja omiljenu igračku u ogledalu i kako ju doživljava?*
Ovaj dio istraživanja vršen je na način da se omiljenom igračkom pojedinog kućnog ljubimca „maše“ u prostoru iza njega i promatraju se reakcije na tu igračku. Detektira se mogućnost prepoznavanja igračke u ogledalu tako da ju životinja samo promatra ili pokušaj hvatanja igračke šapicom.
- *Mogu li životinje locirati hranu preko ogledala koja se nalazi iza njih u njihovoj zdjelici?*
Prostor u kojem se vrši istraživanje pregradi se s prozirnom pregradom iza koje se stavi zdjelica s hranom omotana prozirnom folijom kako bi isključili utjecaj osjeta njuha kod mačke i psa na rezultate i izravan doticaj s hranom. Važno je da je zdjelica postavljena tako da se vidi u ogledalu. Kuniću je stavljena svježa mrkva kojom se povremeno hrani.

Ponašanje životinja tijekom testa, fotografirano je i snimano digitalnim fotoaparatom SONY-DSCHX60B.CE3 te bilježeno u tablice (tablica 1).

Tablica 1 Predložak dijela tablice u koju su bilježeni rezultati

Uzorak:

Način ponašanja pred ogledalom:

Datum:

	1. ciklus	2. ciklus	3. ciklus
Opis ponašanja:	1. minuta		
	2. minuta		
	3. minuta		
	4. minuta		

Po završetku svih testiranja napravljena je analiza prikupljenih podataka koji su prikazani na dva načina. Prva obrada podataka odnosila se na analizu i prikaz rezultata određenog oblika ponašanja izdvojeno za svaku testiranu jedinku, prema već prethodno opisanim metodama. Dakle, zbrojene su i objedinjene pozitivne reakcije na zadano ponašanje za svaku testiranu jedinku, primjerice koliko se puta testirana životinja približila ogledalu i kako je reagirala, u prve dvije, a potom u trećoj i četvrtoj minuti iz sva tri ponovljena ciklusa. Drugi oblik prikazivanja podataka pokazuje ukupan broj pozitivnih reakcija na određeno ponašanje za sve jedinke unutar jedne vrste. Dakle, zbrojeni su podaci (pozitivne reakcije na određeno ponašanje) za sve kuniće, pse i mačke i također prikazani grafički. Na osnovu ovih podataka odredila se razina postojanja samosvijesti, odnosno spoznaje o samom sebi, za svaku vrstu prema tablici 2.

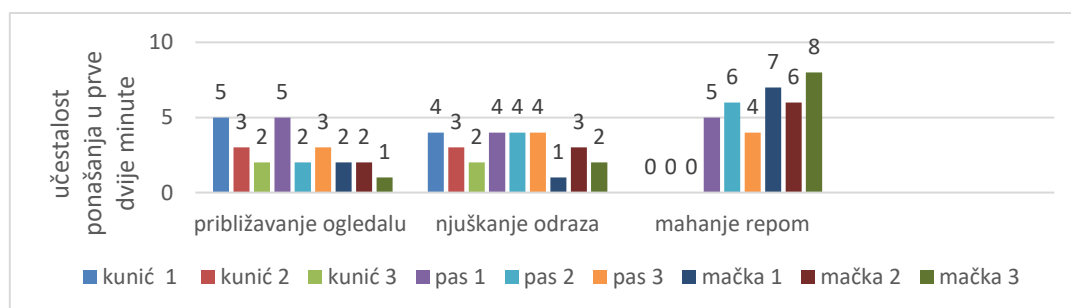
Tablica 2 Skala stupnja razvijenosti samosvijesti

Stupanj samosvijesti	Opis razvijenosti samosvijesti testirane životinje
1	Nema razvijenu samosvijest
2	Slabo razvijena samosvijest
3	Razvijena samosvijest
4	Vrlo razvijena samosvijest

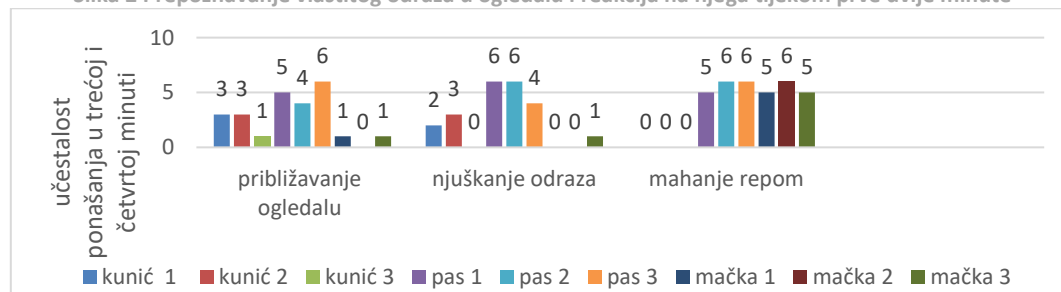
REZULTATI

Prepoznavanje vlastitog odraza u ogledalu

Na slici 2 prikazani su ukupni rezultati koji pokazuju prepoznavanje vlastitog odraza za svaku testiranu životinju u ogledalu tijekom prve dvije minute, a na slici 3 tijekom treće i četvrte minute. Oblici ponašanja koji su praćeni bili su približavanje ogledalu, njuškanje odraza i mahanje repom.

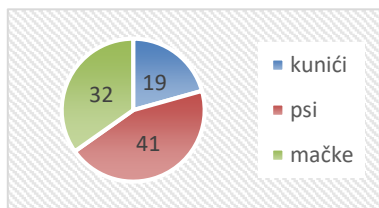


Slika 2 Prepoznavanje vlastitog odraza u ogledalu i reakcija na njega tijekom prve dvije minute

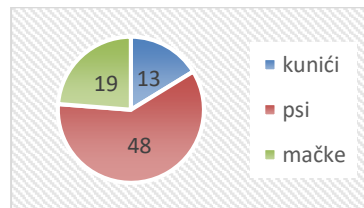


Slika 3 Prepoznavanje vlastitog odraza u ogledalu i reakcija na njega u trećoj i četvrtoj minuti

Slikom 4 predloženi su ukupni rezultati svih oblika ponašanja za sva tri kunića, sva tri psa i sve tri mačke u prve dvije, a slikom 5 u trećoj i četvrtoj minuti.

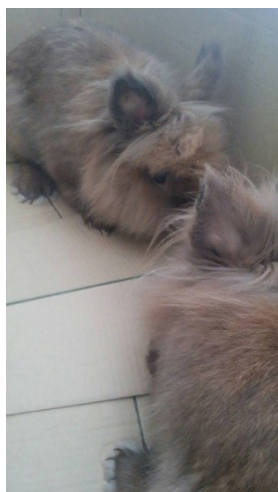
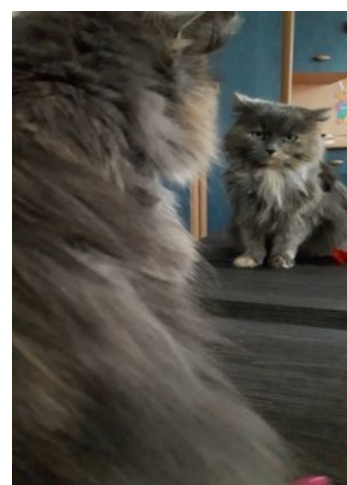


Slika 4 Ukupni rezultati prepoznavanja odraza u prvoj i drugoj minuti



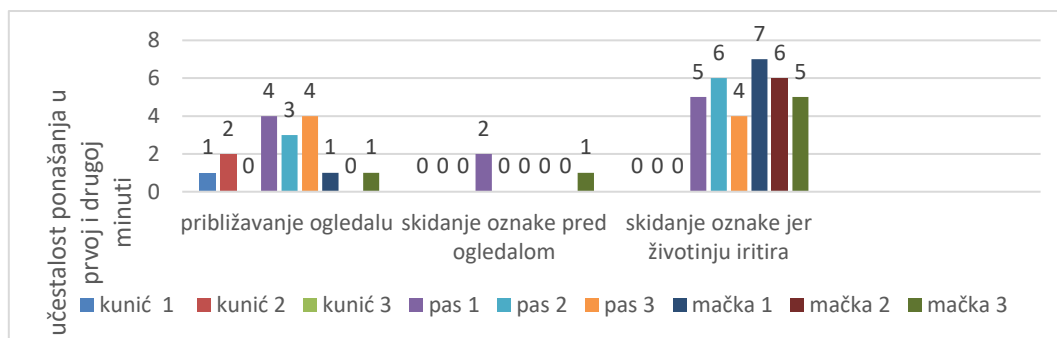
Slika 5 Ukupni rezultati prepoznavanja odraza u trećoj i četvrtoj minuti

Sljedeće fotografije (slika 6, slika 7 i slika 8) prikazuju reakciju na vlastiti odraz u ogledalu kod kunića 1, psa 1 i mačke 1.

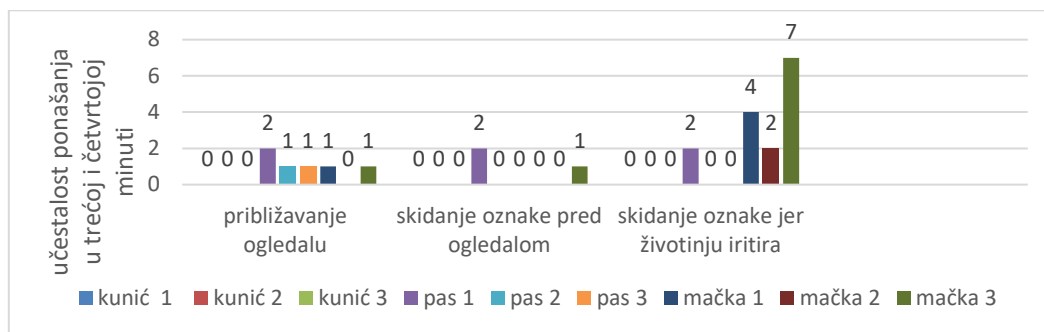
Slika 6 Kunić 1 ispred ogledala
(izvor: Novak, 2018.)Slika 7 Pas 1 ispred ogledala
(izvor: Trnovčanec, 2018.)Slika 8 Mačka 1 ispred ogledala
(izvor: Novak, 2018.)

Primjećivanje „novog“ obilježja na glavi

Slika 9 prikazuje rezultate reakcija svih testiranih ljubimaca s nekom oznakom na glavi u prve dvije minute, a na slici 10 prikazani su rezultati u trećoj i četvrtoj minuti. Oblici ponašanja koji su praćeni odnose se na približavanje životinje ogledalu, skidanje obilježja jer ga životinja uočava ili jer životinji ono smeta.

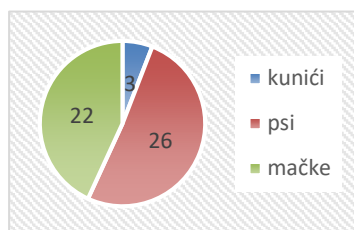


Slika 9 Reakcije ljubimaca na neko „novo“ obilježje na glavi tijekom prve dvije minute

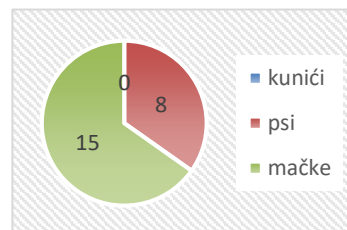


Slika 10 Reakcije ljubimaca na neko „novo“ obilježje na glavi tijekom treće i četvrte minute

Na slici 11 i slici 12 mogu se vidjeti ukupni rezultati reakcija za sve kuniće, mačke i pse kojima je na glavu stavljena određena oznaka u opisanom vremenu.



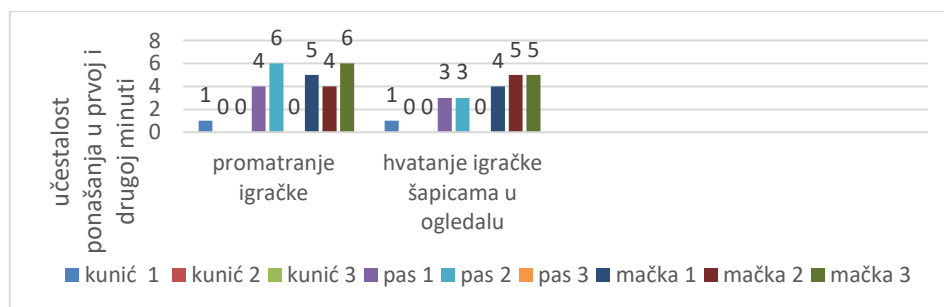
Slika 11 Ukupni rezultati ponašanja s oznakom na glavi tijekom prve dvije minute



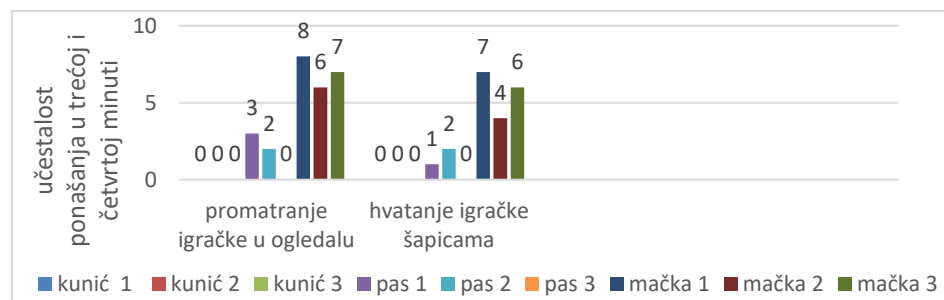
Slika 12 Ukupni rezultati ponašanja s oznakom na glavi U trećoj i četvrtoj minuti

Prepoznavanje omiljene igračke u ogledalu i njezino doživljavanje

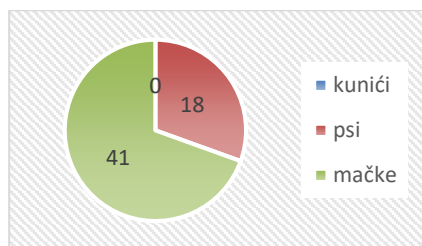
Slika 13 prikazuje rezultate iz kojih se može iščitati kako testirani ljubimci reagiraju na omiljenu igračku ispred ogledala u prvoj i drugoj minuti, a isto je prikazano na slici 14 u trećoj i četvrtoj minuti. Na slikama 15 i 16 prikazani su ukupni rezultati svih jedinki unutar iste vrste za isti oblik ponašanja.



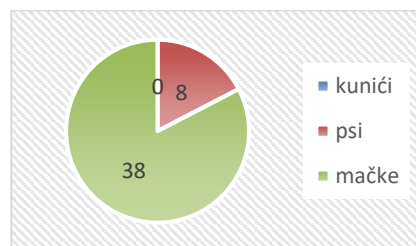
Slika 13 Reakcije ljubimaca na omiljenu igračku tijekom prve dvije minute



Slika 14 Reakcije ljubimaca na omiljenu igračku tijekom treće i četvrte minute



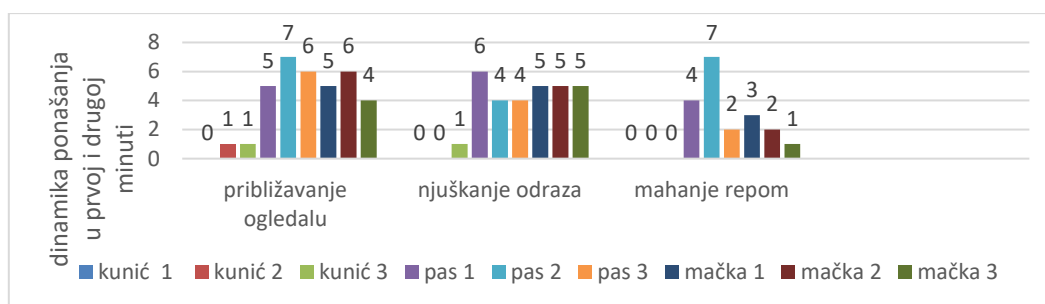
Slika 15 Ukupni rezultati ponašanja u prve dvije minute s omiljenom igračkom



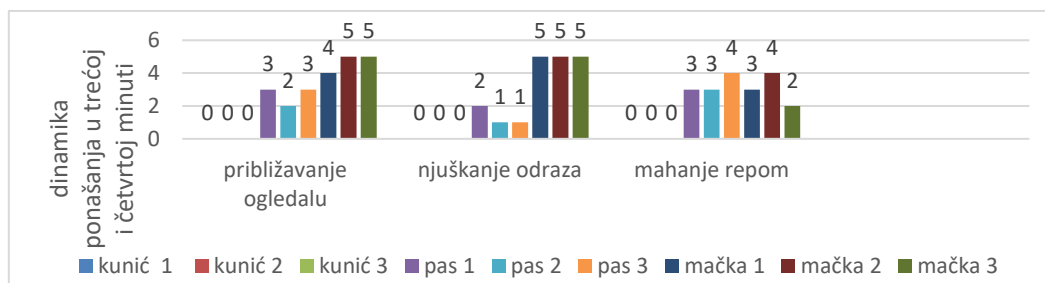
Slika 16 Ukupni rezultati ponašanja s omiljenom igračkom u trećoj i četvrtoj minuti

Mogućnost prepoznavanja zdjelice s hranom u ogledalu

Slika 17 i slika 18 pokazuju rezultate ponašanja životinja kad im je ponuđena hrana iza prozirne pregrade, a odraz se vidi u ogledalu. Opet je bilježeno približavanje ogledalu, njuškanje i mahanje repom.

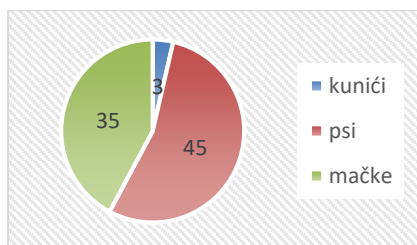


Slika 17 Reakcije ljubimaca na odraz zdjelice s hranom u ogledalu u prvoj i drugoj minuti

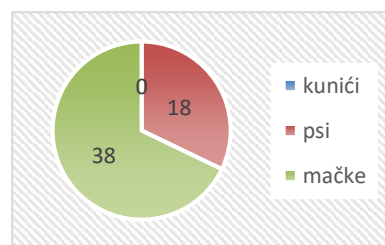


Slika 18 Reakcije ljubimaca na odraz zdjelice s hranom u ogledalu u trećoj i četvrtoj minuti

Slike 19 i 20 pokazuju ukupne rezultate svih testiranih životinja na zdjelicu hrane koja je postavljena tako da ju životinje vide samo u ogledalu, a slika 23 pokazuje fotografiju kunića 1 s hranom.



Slika 19 Ukupni rezultati ponašanja u prve dvije minute sa zdjelicom hrane za sve jedinke unutar iste vrste



Slika 20 Ukupni rezultati ponašanja u trećoj i četvrtoj minuti sa zdjelicom hrane za sve jedinke iste vrste



RASPRAVA

Nakon provedenog istraživanja i detaljne analize rezultata utvrđeno je da naše pretpostavke o postojanju samosvijesti, odnosno osjećaja samog sebe pred ogledalom, kod kućnih ljubimaca nisu bile u potpunosti točne. Naime, rezultati istraživanja kojima se ispituje postojanje svijesti o samom sebi, pokazuju da se kunići približavaju ogledalu te time potvrđuju da imaju razvijenu svijest o sebi, gotovo isto kao i mačke, ali znatno manje od pasa, te je njihova pažnja za promatranjem svoje slike u ogledalu jednakomjerno zastupljena u sve četiri minute. Mačkama ubrzo dosadi gledanje u ogledalu pa se reakcije na vlastiti odraz s vremenom smanjuju, dok psi svoju pažnju za vlastitim odrazom kako vrijeme odmiče povećavaju. Ovakav rezultat nije očekivani stoga što se povezuju samosvijest o sebi i inteligencija životinje, a naši su rezultati istraživanja pokazali odstupanje. Mahanje repom učestalije je kod mačaka tijekom cijelog testiranja iz razloga što su mačke manje strpljive od pasa i na taj način iskazuju svoje nezadovoljstvo i ljutnju. Prema našem ispitivanju sve su životinje položile prvi test kojim prepoznaju sebe u ogledalu. Podaci koji se navode na mrežnim stranicama (Dolores, 2017) pokazuju da ukoliko životinja prođe test ogledala, dakle pokaže reakciju na svoj odraz, to predstavlja jak dokaz samospoznaje i ukazuje na mogućnost samosvijesti ("osjećaja samog sebe"). Međutim, to ne mora biti definitivni dokaz. Ako životinja ne prođe takav test, to nužno ne znači da ona ne posjeduje te sposobnosti. Na primjer, životinje koje se oslanjaju na druga osjetila jače od njihove vizije možda neće imati toliko interesa za vlastitim odrazom (Dolores, 2017). Budući da su ispitivanja s „oznakom“ na glavi vršena samo kod nekih primata, važno je i njih iznijeti jer nam ipak pomažu u tumačenju naših rezultata istraživanja. Zanimljivo je da u provedenim istraživanjima na primatima samo čimpanze i orangutani reagiraju dodirivanjem označenih mjesta, što je Gallupu bio dokaz da te dvije vrste posjeduju svijest o sebi. Ali, Donald Griffin, biolog sa Sveučilišta Harvard, smatra da su i druge vrste svjesne sebe, makar i nisu prošle test s biljegom. Zašto bi, kaže Griffin, čimpanze i orangutani prošli test, a drugi veliki majmuni, kao što je gorila, ne? K tomu samo 75 % odraslih čimpanzi prođe test. "Ispada da su neke čimpanze samosvjesne, a drugi ne, što zvuči pomalo smiješno", kaže Griffin (Krpan, 2013). Podaci dobiveni našim istraživanjem pokazuju da kunić uopće ne reagira na „oznak“ stavljenju na glavu i niti je ne pokušava skinuti, ali se promatra u ogledalu, dok mačke uočavaju oznaku na glavi i one ju pokušavaju maknuti svojim šapama ili mahanjem glavom jer ih iritira i to podjednako tijekom sve četiri minute dok se psi nakon kraćeg vremena navikavaju na „oznak“ na glavi i više im ne smeta. Dakle, olako odustaju od zadatka. Daniel Povinelli, kognitivni znanstvenik sa Sveučilišta Louisiana, tvrdi da čak i maloj djeci, kad su stavljena na test s „oznakom“, nedostaje vrsta svijesti o sebi kakvu imaju starija djeca (Krpan, 2013). U jednome od Povinellijevih eksperimenata djeca su na videu gledala kako im netko tek koju minutu ranije kradom stavlja veliku naljepnicu jarkih boja navrh glave. Vidjevši film, većina trogodišnjaka nije se sjetila dohvatiti i odstraniti naljepnicu. Oni se prepoznaju (to sam ja!), ali nisu sasvim svjesni da im je naljepnica i dalje na glavi ("naljepnica je na glavi dečka na televiziji"). Ali većina četverogodišnjaka prošla je test (Krpan, 2013). U sljedećem testu gdje se promatra reakcija životinje na omiljenu igračku uočeno je da ju kunić uopće ne opaža jer ne pokazuje nikakve posebne reakcije, dok se mačke najučestalije približavaju ogledalu i najupornije su u nastojanju da dohvate igračku svojim šapicama. Psi pokazuju manju zainteresiranost za igrom, odnosno za hvatanjem igračke u ovom testu, što nismo očekivale. Dakle kunići nisu položili ova dva navedena testa, za razliku od mačaka i pasa. Što se tiče prepoznavanja zdjelice s hranom dobiveni rezultati sukladni su s pretpostavkama s početka istraživanja. Kunići ne prepoznaju svježu mrkvu pred ogledalom i nezainteresirani su, dok se psi u prvim minutama više približavaju ogledalu sto znači da uočavaju



hranu, a potom odustaju. Mačke reagiraju njuškanjem i mahanjem repom podjednako tijekom cijelog testa. Ako se stupanj razine samosvijesti kod životinja određuje zamišljenom skalom od jedan do četiri (tablica 2), nakon istraživanja i testiranja ponašanja životinja pred ogledalom te cjelokupne obrade podataka može se tvrditi da mačke imaju najvišu razinu samosvijesti među testiranim životinjama i dodjeljujemo im razinu 4, psi imaju nešto nižu i dodjeljujemo im razinu 3 dok kunići imaju vrlo nisku razinu samosvijesti i dodjeljujemo im razinu 1. Time je opovrgnuta naša pretpostavka da će razina samosvijesti biti najrazvijenija kod pasa jer se oni smatraju najinteligentnijim među životinjama na kojima je vršeno naše ispitivanje.

ZAKLJUČCI

Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti:

- ✿ svi testirani kućni ljubimci prepoznaju svoj odraz u ogledalu
- ✿ mačke i kunići pokazuju više interesa za gledanjem odraza u ogledalu u prvim minutama i brzo odustaju za razliku od pasa koji su bili ustrajni u zadatku
- ✿ oznaku na glavi kunići ne prepoznaju za razliku od mačaka, dok su psi osjetljiviji na oznaku u prvim minutama, ali se s vremenom na nju privikavaju
- ✿ tijekom testiranja mačke intenzivnije mašu repom od pasa tijekom sve četiri minute što povezujemo s njihovim nezadovoljstvom, a ne odrazom u ogledalu
- ✿ kunići nisu reagirali na odraz omiljene igračke u ogledalu za razliku od mačaka koje su tijekom cijelog vremena pokazivale interes za hvatanjem igračke u ogledalu u puno većoj mjeri od pasa
- ✿ kunići nisu reagirali na zrcalnu sliku hrane, dok su mačke bile ustrajnije u pokušaju uzimanja hrane u ogledalu od pasa
- ✿ prema skali stupnja razvijenosti samosvijesti može se zaključiti da kunići imaju slabo razvijenu samosvijest, razvijenu samosvijest imaju psi, a kod mačaka je razina samosvijesti vrlo visoka
- ✿ razina samosvijesti nije nužno povezana s inteligencijom životinje.

LITERATURA

- Starc B., Čudina-Obradović M., Pleša A., Profaca B., Letica M. 2004. Osobine i psihološki uvjeti razvoja djeteta predškolske dobi. Tehnička knjiga, Zagreb
- Vasta R., Haith M.H., Miller S.A. 2005. Dječja psihologija. Naklada Slap, Jastrebarsko
- Bjedov, L. 2011. Životinjska samosvijest, Kako u ogledalu vidjeti svoj lik, <http://biologija.com.hr/modules/AMS/article.php?storyid=8546>, pristupljeno, 11.12.2017.
- Dolores, 2017. Mačke i odraz u ogledalu, Mačke.hr, <http://www.macke.hr/macke-i-odraz-u-ogledalu>, pristupljeno 15.12.2017.
- Krpan, H. 2013. Svijest životinja – Znanost blog, <http://www.znanostblog.com/svijest-zivotinja/>, pristupljeno, 21.02. 2018.

UČINAK FOLNE KISELINE I VITAMINA D NA MORFOLOŠKE MALFORMACIJE EMBRIJA ZEBRICE

Petra Rako, 8. razred

Klara Krajnik, 8. razred

Osnovna škola Ante Kovačić, Zagreb

Mentor: Vedran Balta

SAŽETAK

Folna kiselina i vitamin D važni su u mnogim procesima poput stanične diobe, rasta i diferencijacije stanica embrija. Tijekom embrionalnog razvoja kralježnjaka nedostatak folne kiseline i vitamina D može dovesti do pojave raznih anomalija koje uzrokuju oštećenje ploda. Uzroci embrionalnih anomalija kralježnjaka uglavnom su posljedica promijenjenog genetičkog materijala, međutim do pojave anomalija embrija može doći i djelovanjem okolišnih čimbenika kao što je prekomjerna konzumacija alkohola za vrijeme trudnoće. U ovom radu istražili smo moguće korisno djelovanje pripravka folne kiseline i vitamina D na morfološke malformacije embrija ribe zebrice uzrokovane alkoholom etanolom. Pokus je proveden tijekom 96 sati na 120 embrija zebrice podijeljenih u četiri različite skupine: skupina I – kontrolna skupina; skupina II – vodena otopina etanola; skupina III – vodena otopina folne kiseline i vitamina D3 i skupina IV – vodena otopina etanola u kombinaciji s folnom kiselinom i vitaminom D. Tijekom embrionalnog razvoja ribe zebrice pratili smo razvoj segmenata kralježnice, odvajanje repa od žumanjčane vreće i razvoj edema te brojali otkucaje srca. Temeljem dobivenih rezultata zaključujemo da istraživani pripravak folne kiseline i vitamina D smanjuje opseg razvoja morfoloških malformacija embrija zebrice te da njihova primjena može poslužiti u sprječavanju nastanka morfoloških malformacija embrija bez štetnih posljedica.

Gljučne riječi: folna kiselina, vitamin D, etanol, teratogenost, zebrica

UVOD

Folna kiselina pripada vitaminima skupine B topivima u vodi. Važna je u mnogim metaboličkim procesima i nužna je za diobu stanica, osobito u procesima diferencijacije i rasta stanica embrija. Zbog toga su potrebe za folnom kiselinom u trudnoći toliko povećane da se ne mogu zadovoljiti uobičajenim unosom hrane, već je potrebno dodatno je unositi (Banjari i sur., 2009). Također, folna kiselina sudjeluje u stvaranju stanica krvi i zacjeljivanju rana jer je tijekom diobe stanica nužna za stvaranje DNA i RNA. Zbog toga je ona značajna tijekom trudnoće, a njezin nedostatak može dovesti do raznih oštećenja ploda (Guyton i Hall, 2006). Pri nedostatku folne kiseline mogu nastati ozbiljni poremećaji u nekim stanicama tijela. Tako se velika pažnja posvećuje istraživanju oštećenja neuralne cijevi koja dovode do doživotnog invaliditeta ili u nekim slučajevima do smrti. Istraživanja dokazuju da korištenje folne kiseline prije začeća smanjuje vjerojatnost nastanka oštećenja neuralne cijevi, prijevremeni porođaj i malu porođajnu masu djeteta (Banjari i sur., 2014). Zbog toga ginekolozi i preporučuju uzimanje folne kiseline najmanje mjesec dana prije planirane trudnoće pa sve do kraja prvog tromjesječja trudnoće. Postoji niz istraživanja koji opisuju pozitivne učinke folne kiseline na razvoj živčanog i krvožilnog sustava tijekom embrionalnog razvoja embrija zebrice (Sun i sur., 2015; Lee i sur., 2014).

Osim folne kiseline tijekom trudnoće potrebno je u organizam unositi i ostale vitamine. Jedan od njih je i vitamin D, prvenstveno potreban za rast kostiju. Vitamin D pomaže u apsorpciji kalcija i fosfora u crijevima i tako omogućuje normalnu mineralizaciju kostiju (Laktašić i sur., 2008). Istraživanja su pokazala da je vitamin D posebice važan u razvoju mozga kralježnjaka te da nedostatak vitamina D



tijekom embrionalnog razvoja fetusa može dovesti do pojave različitih bolesti kao što su rahitis, multipla skleroza i Alzheimerova bolest (Mpandozu i sur., 2016).

Uzroci embrionalnih anomalija kralježnjaka uglavnom su posljedica promijenjenog genetičkog materijala, međutim, do pojave anomalija embrija može doći i djelovanjem okolišnih čimbenika kao što je prekomjerna konzumacija alkohola za vrijeme trudnoće (Zergollern, 1986). Uzimanje alkohola za vrijeme trudnoće može izazvati prirodene malformacije, osobito ako je majka pila velike količine alkohola ili se opijala. Velike količine alkohola mogu dovesti do pobačaja ili uzrokovati fetalni alkoholni sindrom (Pećina-Hrnčević i Buljan, 1991). Međutim, nema dokaza da su male količine alkohola bezopasne, stoga bi ga tijekom trudnoće valjalo potpuno izbjegavati. Fetalni alkoholni sindrom je stanje koje zahvaća neku novorođenčad majki koje su tijekom trudnoće pile alkohol. Novorođenčad s fetalnim alkoholnim sindromom sitna su i imaju malu glavu, što upućuje na slab rast mozga za vrijeme života unutar maternice. Sitne oči, spljošteno lice, nenormalni nabori na dlanovima i tabanima, srčane mane i nepravilnosti zglobova samo su neke od brojnih malformacija koje mogu nastati. Najozbiljnija posljedica je nenormalni razvoj mozga što uzrokuje i duševnu zaostalost (Pećina-Hrnčević i Buljan, 1991). Uzimanje alkohola tijekom trudnoće predstavlja najčešći uzrok duševne zaostalosti koji se od začeća do rođenja može spriječiti ili umanjiti.

U posljednjih nekoliko godina, riba zebrica često se koristi kao model u gotovo svim znanstveno-istraživačkim područjima. Zbog činjenice da je fiziološka i molekularna funkcija na razini stanice i organa zebrica vrlo dobro usporediva sa sisavcima, uključujući i ljude, zebrice su privukle pozornost mnogih znanstvenika. Mala veličina, velik broj potomaka, prozirnost embrija, te detaljno opisani embrionalni razvoj čine je idealnim modelom za znanstvena istraživanja, a transparentnost embrija omogućuje praćenje raznih letalnih učinaka, kao i raznih malformacija (Babić, 2015).

Cilj ovog istraživačkog rada je utvrditi učinak folne kiseline i vitamina D na opseg razvoja morfoloških malformacija embrija zebrice uzrokovanih etanolom tijekom 96 h nakon oplodnje u različitim vremenskim intervalima. Praćene su one morfološke promjene koje se lako mogu vidjeti korištenjem svjetlosnog mikroskopa: razvoj segmenata kralježnice, odvajanje repa od žumanjčane vreće i, razvoj edema (otekline), te su brojani otkucaji srca.

S obzirom na navedena djelovanja folne kiseline i vitamina D očekujemo da će dodatak folne kiseline i vitamina D u vodeni okoliš u kojem se razvijaju embriji zebrice doprinijeti smanjenju pojave morfoloških malformacija embrija zebrice. Embriji zebrica u potpunosti zadovoljavaju 3R načela pri čemu se stavlja naglasak na etičke principe pri testiranju životinja. Prema Direktivi o zaštiti životinja koje se koriste u laboratorijske svrhe (Directive, 2010/63/EU) zebrice do 120 sati nakon oplodnje ne podliježu zakonskoj regulativi.

METODE RADA

Korištene kemikalije i pribor

U istraživanju su korištene slijedeće kemikalije i pribor: folna kiselina (Folacin tablete, 5 mg ("JADRAN"-Galenski laboratorij d.d., 5 mg/L), vitamin D (Oleovit D₃ 14400 IU/mL oralne kapi, otopina, 1200 IU/L), alkohol etanol (1,5 %), vodovodna voda, svjetlosni mikroskop, flex kamera AVERVISION 130, predmetna stakalca za mikroskopiranje, plastične Petrijeve zdjelice, satno staklo, Pasteurove pipete,

filtrirni papir, stakleni akvariji, laboratorijska staklena čaša (20 mL, 50 mL, 100 mL), menzura, stakleni štapić i plastična boca (1,5 L).

Pokusne životinje

Pokus je proveden na embrijima ribe zebrice (*Danio rerio*) dobivenim iz vlastitog uzgoja u školskom vivariju koji se nalazi unutar opremljenog školskog kabineta i učionice biologije. U uzgoj embrija bilo je uključeno šest odraslih riba zebrica, četiri jedinke muškog i dvije jedinke ženskog spola starosti dvije godine (slika 1).



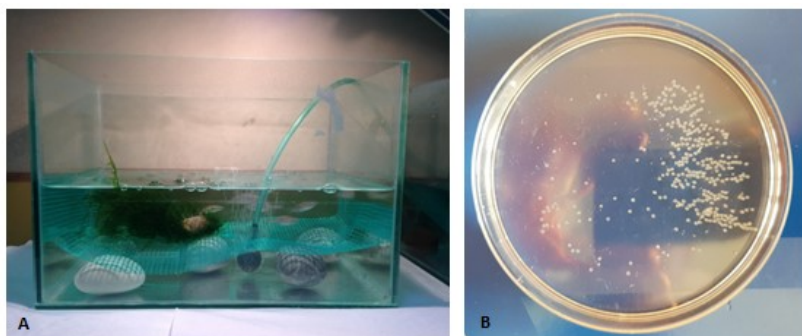
Slika 1 Riba zebrice

Riba zebrica (*D. rerio*), vrsta je slatkovodne, tropske ribice iz porodice Cyprinidae (šarani). Obitava u plitkim i sporim tekucicama na Indijskom polukontinentu. Ime je dobila po pet specifičnih, horizontalnih pruga plave boje koje izgledom podsjećaju na zebrine pruge (Nusslein-Volhard i sur., 2002). Tijekom odrasle faze spolni se dimorfizam očituje kroz različitu veličinu i oblik tijela te pigmentaciju. Mužjaci su često manji od ženki te imaju izduženije i žućkasto tijelo, dok se ženke odlikuju većim tijelom sa zaobljenim bjelkastim trbuhom. Prosječni životni vijek zebrice u zatočeništvu je 5 godina, a spolnu zrelost dosežu, ovisno o tipu ishrane, oko petog mjeseca života. Par zebrica može po mrijestu dati između 100 i 200 embrija (Lawrence, 2015).

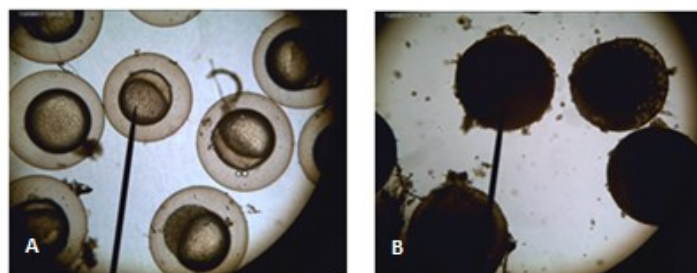
Posljednjeg desetljeća *D. rerio* koristi se kao modelni organizam kralježnjaka, najviše u razvojnoj biologiji. Glavne prednosti su jednostavnost održavanja i parenja. Velik potencijal ima u embriologiji zbog dobre optičke vidljivosti embrija i ličinke te neurobiologiji, pri istraživanju mozga, radi velike sličnosti živčanog sustava ribice i čovjeka (Hill i sur., 2004).

Uzgoj i mrijest zebrica

Uzgoj i mrijest zebrica odvijao se sukladno Direktivi 2010/63/EU. Cijelo istraživanje provedeno je na nezaštićenom embrionalnom stadiju zebrice koji ne podliježe okvirima zakonske regulative (Directive, 2010/63/EU, Lammer i sur., 2009). Uzgoj odraslih zebrica odvijao se pod utjecajem izmjene prirodnog svjetla i tame. Dan prije mrijesta mužjaci i ženke u omjeru 2:1 odvojeni su u akvarij koji je na dnu sadržavao zidarsku mrežicu s kamenjem i vodenim biljem (Slika 2). Mrežica je imala ulogu sita. Nakon mrijesta jajašca su pala na dno, a mrežica je sprečavala odrasle zebrice da pojedu embrije. Parenje, mrijest i oplodnja odvijali su se u razdoblju od 45 minuta nakon jutarnjeg paljena svjetlosne lampice. Dva sata nakon mrijesta, oplodjena jajašca su prikupljena plastičnom Pasteurovom pipetom u Petrijevu zdjelicu s vodom (slika 2 i 3). Razlika između oplodjenih i neoplodjenih jajašca vidljiva je golim okom. Neoplodjena jajašca vrlo brzo koaguliraju (neprozirna su), odnosno poprimaju bijelu boju. Razlika između oplodjenih i neoplodjenih jajašca je provjerena je uporabom svjetlosnog mikroskopa.



Slika 2 A –mrjestilišni akvarij, B - skupljena jajašca ribe zebice nakon mrijesta



Slika 3 Jajašca riba zebice: A – oplodjena jajašca, B – neoplodjena jajašca (200X)

Pokusne skupine embrija

Embriji su slučajnim odabirom odmah nakon oplodnje raspodijeljeni u četiri različite skupine. Svaka skupina prikazana na slici 4 sadržavala je 10 embrija ribe zebice. Skupine su priređene u triplicatima tako da je ukupan broj embrija zebice u ovom istraživanju iznosio 120. Prvu skupinu činili su embriji uzgajani u čistoj vodovodnoj vodi (zdrava kontrola), druga skupina embrija uzgajana je u vodenoj otopini 1,5 %-tnog etanola (kontrolna skupina za „fetalni alkoholni sindrom“, EtOH), treću skupinu činili su embriji uzgajani u vodenoj otopini folne kiseline i vitamina D₃ (FK+D), dok su četvrtu skupinu činili embriji uzgajani u vodenoj otopini etanola, folne kiseline i vitamina D₃ (FK+D+EtOH). U svaku je Petrijevu zdjelicu s embrijima uliveno 20 mL pripremljene otopine. Svakog dana tijekom trajanja pokusa 50 % volumena otopine iz Petrijeve zdjelice (uključujući i kontrolnu skupinu) zamijenjeno je novom pripremljenom otopinom.



Slika 4 Pokusne skupine embrija

Praćenje embrionalnog razvoja

Morfološke promjene na embrijima zebice promatrane su i snimljene nakon 24, 48, 72, 96 i 120 h od oplodnje i izlaganja pripremljenim otopinama uporabom svjetlosnog mikroskopa i flex kamere. Napravljena je i brojčana usporedba zastupljenosti morfoloških promjena između pojedinih skupina embrija.

Praćene su morfološke promjene koje se mogu lako uočiti uporabom svjetlosnog mikroskopa, a to su: razvoj segmenata kralježnice, odvajanje repa od žumanjčane vreće i pojava edema u području



žumanjčane vreće. 24 h nakon oplodnje praćena je pojava segmenata u razvoju kralježnice. 48 h nakon oplodnje praćeno je odvajanje repa od žumanjčane vreće, a 72 h nakon oplodnje pojava edema u području žumanjčane vreće.

Uočene promjene označene su brojevima od 1 do 3 (3 = izostanak promjene, 2 = djelomična promjena, 1 = potpuna promjena). Tako je primjerice odvajanje repa od žumanjčane vreće zabilježeno na sljedeći način:

- izostanak odvajanja repa 3
- djelomično odvajanje repa 2
- potpuno odvajanje repa 1

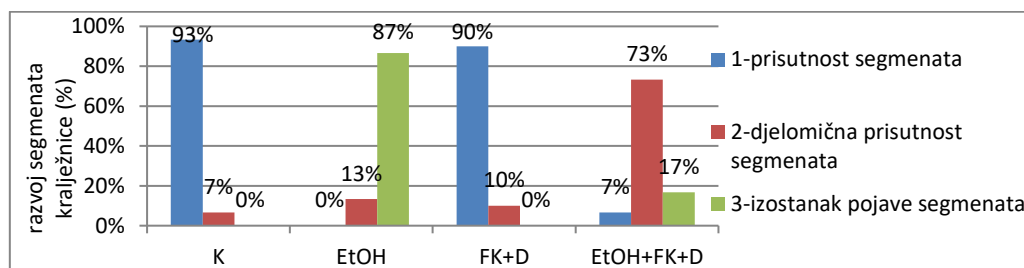
Osim navedenih morfoloških promjena, 96 h nakon oplodnje izmjerena je i srednja vrijednost broja otkucaja srca embrija u pojedinim skupinama. Brojanje otkucaja srca napravljeno je pod svjetlosnim mikroskopom uz pomoć štoperice. Svako jedinki mjereno je broj otkucaja srca tijekom 30 sekundi, te je izmjereni broj otkucaja pomnožen s brojem dva. Mjerenje je ponovljeno tri puta.

Nakon provedenog pokusa svi embriji zebrice korišteni u pokusu eutanazirani su u 96 %-tnom etanolu. Za izradu grafikona korišten je program Microsoft Office Excel 2007, dok je za obradu slika korišten program Paint.

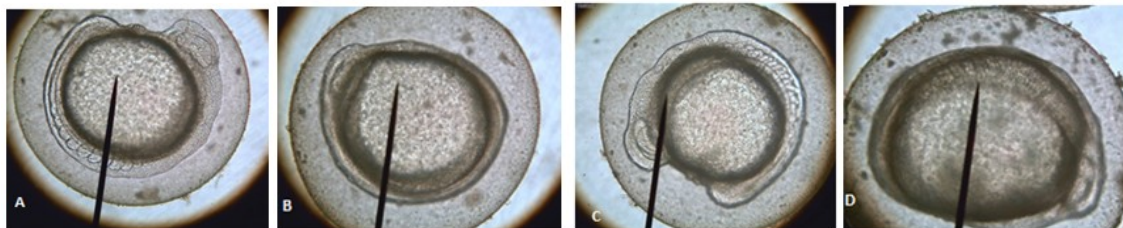
REZULTATI

Razvoj embrija zebrice u različitim pokusnim uvjetima rezultirao je brojnim morfološkim malformacijama, ali i njihovim smanjenjem ili izostankom. U skupini uzgajanoj u vodenoj otopini alkohola zabilježena su tri uginuća embrija. Sve praćene promjene izražene su u postotku kao srednje vrijednosti tripplikata unutar jedne pokusne skupine.

Iz prikazanih podataka vidljivo je da kontrolna skupina i skupina uzgajana u otopini folne kiseline i vitamina D imaju najveći postotak razvoja segmentacije kralježnice (iznad 90 %) što odgovara normalnom fiziološkom razvoju embrija zebrice (slika 5 i 6). Kod skupine uzgajane u vodenoj otopini etanola pojava segmentacije je rijetka, svega 13 %, a u ostalih embrija u toj skupini (87 %) nije primijećena pojava segmenata. U skupini uzgajanoj u vodenoj otopini etanola u kombinaciji s folnom kiselinom i vitaminom D u 73 % embrija zabilježena je djelomična segmentacija kralježnice, dok je u 17 % embrija zabilježen izostanak segmentacije kralježnice.

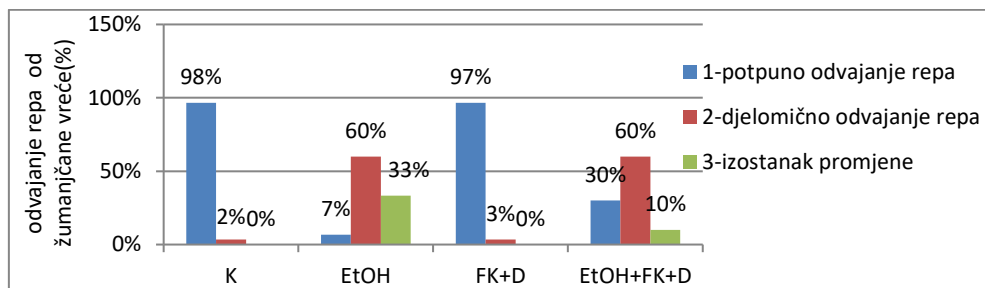


Slika 5 Pojava razvoja segmenata kralježnice u četiri skupine embrija zebrice (%) 24 h nakon oplodnje

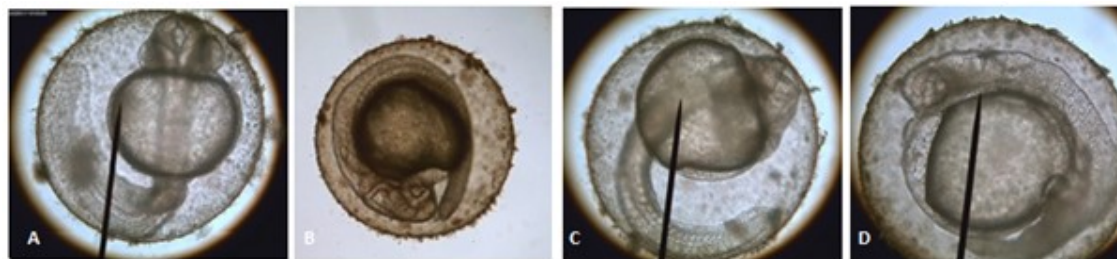


Slika 6 Usporedba razvoja segmenata kralježnice u četiri skupine embrija zebrice snimljenih 24 h nakon oplodnje (200X)
A – kontrolna skupina, B – skupina EtOH, C – skupina FK+D, D – skupina EtOH+FK+D

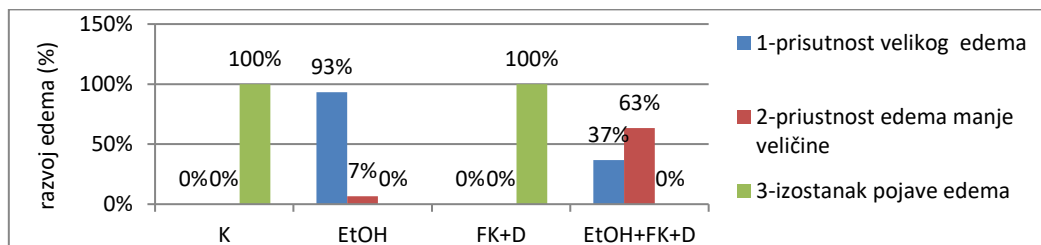
Slično prethodnim rezultatima, kontrolna skupina i skupina uzgajana u otopini folne kiseline i vitamina D imaju najveći postotak odvajanja repa od žumanjčane vreće (iznad 95 %) što također odgovara normalnom fiziološkom razvoju embrija zebrice (slika 7 i 8). Kod skupine uzgajane u vodenoj otopini etanola i skupini uzgajanoj u etanolu u kombinaciji s folnom kiselinom i vitaminom D izmjeren je jednak udio djelomičnog odvajanja repa od 60 %, dok je potpuni izostanak pojave odvajanja repa bio veći u skupini uzgajanoj u etanolu (33 %).



Slika 7 Pojava odvajanja repa od žumanjčane vreće u četiri skupine embrija zebrice 48 h nakon oplodnje (%)



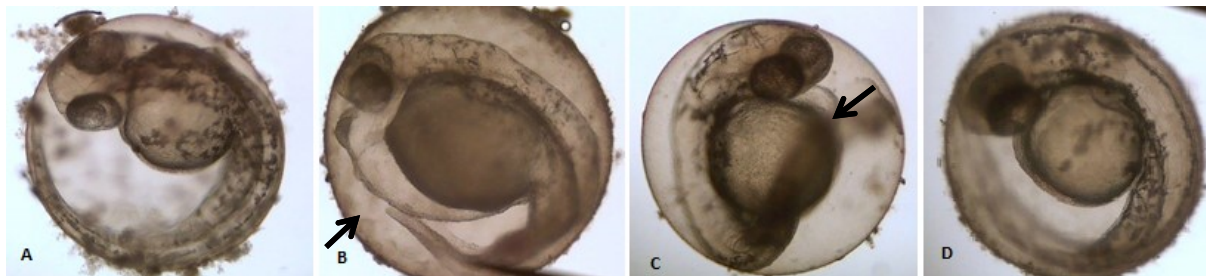
Slika 8 Odvajanje repa od žumanjčane vreće u četiri skupine embrija zebrice snimljenih 48 h nakon oplodnje (200X)
A – kontrolna skupina, B – skupina EtOH, C – skupina FK+D, D – skupina EtOH+FK+D



Slika 9 Pojava razvoja edema u četiri pokusne skupine embrija zebrice 72 h nakon oplodnje (%)

U kontrolnoj skupini i skupini uzgajanoj u vodenoj otopini folne kiseline i vitamina D nije zabilježena pojava edema. Kod skupine uzgajane u vodenoj otopini etanola je u 93 % embrija zabilježen razvoj

velikog edema, dok je u skupini uzgajanoj u vodenoj otopini alkohola u kombinaciji s folnom kiselinom i vitaminom D u 37 % embrija zabilježen razvoj velikog edema (slika 9 i 10).

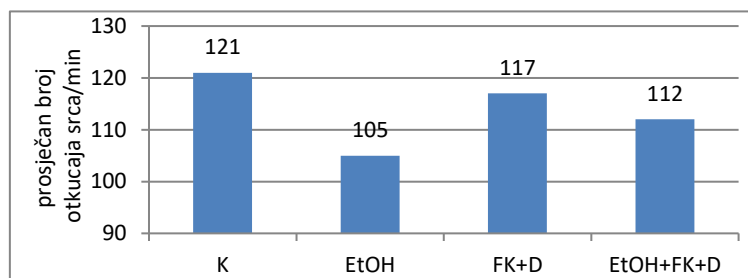


Slika 10 Pojava razvoja edema u četiri pokusne skupine embrija zebrice snimljenih 72 h nakon oplodnje (200X)

A – kontrolna skupina, B – skupina EtOH, C – skupina EtOH+FK+D, D – skupina FK+D.

Strelice označavaju edem u području žumančane vrećice.

96 sati nakon oplodnje izmjerena je srednja vrijednost broja otkucaja srca u svih 120 embrija, rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost broja otkucaja u minuti (slika 11).



Slika 11 Prosječan broj otkucaja srca u četiri pokusne skupine embrija zebrice

Iz slike 11 je vidljivo da je prosječan broj otkucaja srca u minuti najmanji u skupini EtOH, između skupina FK+D i skupine EtOH+FK+D razlika je mala, a najveći broj otkucaja zabilježen je u kontrolne skupine.

RASPRAVA

Ovim smo istraživanjem procijenili učinak folne kiseline i vitamina D na pojavu morfoloških malformacija u embrija zebrice uzrokovanih etanolom. Prateći razvoj segmenata kralježnice, vidljivo je da jedino u skupini embrija izloženoj vodenoj otopini etanola nisu vidljivi segmenti kralježnice. U skupini uzgajanoj u vodenoj otopini etanola u kombinaciji s folnom kiselinom i vitaminom D, također je utvrđen negativan učinak etanola na razvoj segmenata kralježnice, ali u nešto manjem postotku od skupine uzgajane u vodenoj otopini etanola. Iz tih rezultata vidljivo je jako inhibicijsko djelovanje etanola u razvoju embrija, ali također je dokazano da folna kiselina i vitamin D imaju pozitivan učinak na razvoj embrija te smanjuju negativan učinak etanola. Fernandez i Janowicz (2013) istraživali su učinak drugog vitamina, vitamina C (askorbinske kiseline) na razvoj malformacija u embrija kokoši. U njihovom istraživanju etanol je također uzrokovao malformacije u razvoju koštanog i živčanog sustava u odnosu na kontrolnu skupinu i skupinu tretiranu etanolom u kombinaciji s vitaminom C. Njihov zaključak je da vitamin C neutralizira alkohol etanol i uklanja ga iz organizma (Fernandez i Janowicz, 2013). Sličan eksperiment proveli su Peng i sur. (2005) koji su također istraživali utjecaj vitamina C na razvoj anomalija glave na embrijima žabe roda *Xenopus*. U njihovom istraživanju, vitamin C je također pokazao pozitivan učinak u sprečavanju razvoja anomalija glave uzrokovan alkoholom etanolom.



Pratjenjem pojave edema također je uočeno da je u skupini EtOH+FK+D došlo do smanjenog razvoja edema u odnosu na skupinu EtOH. Slično istraživanje proveli su Muralidharan i Sarmah (2015) gdje su pratili učinak folne i retinoične kiseline na razvoj morfoloških anomalija u embrija zebrice uzrokovanih etanolom. U njihovom istraživanju retinoična kiselina u kombinaciji s folnom kiselinom također je smanjila razvoj edema. Usporedbom rezultata praćenja odvajanja repa od žumanjčane vreće nije primijećena značajnija razlika između skupine EtOH i EtOH+FK+D. Brojanjem otkucaja srca utvrđeno je da je najmanji broj otkucaja srca u skupinama EtOH i EtOH+FK+D što ukazuje na to da visoke koncentracije alkohola etanola (1,5 %) uzrokuju nepravilan razvoj srca. Ti rezultati su u skladu s dosad opisanim učincima etanola na razvoj embrija zebrice (Bilotta i sur., 2002).

ZAKLJUČCI

Temeljem dobivenih rezultata istraživanja učinka folne kiseline i vitamina D na morfološke malformacije embrija zebrice uzrokovanih etanolom mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- ✿ Etanol uzrokuje pojavu različitih malformacija u embrija zebrice
- ✿ Folna kiselina i vitamin D ne izazivaju pojavu malformacija u embrija zebrice
- ✿ Folna kiselina i vitamin D u kombinaciji s vodenom otopinom etanola smanjuju opseg pojave malformacija u embrija zebrice.

LITERATURA

- Banjari I., Matoković V., Škoro V. 2009. The question is whether intake of folic acid from diet alone during pregnancy is sufficient. *Medicinski pregled* - Journals 67(9-10):313-321.
- Babić S., Barišić J., Višić H., Sauerborn Klobučar R., Topić Popović N., Strunjak-Perović I., Čož-Rakovac R., i Klobučar G. 2017. Embryotoxic and genotoxic effects of sewage effluents in zebrafish embryo using multiple endpoint testing. *Water Research* 115: 9–21.
- Bilotta J., Saszik S., Givin C. M., Hardesty H. R., & Sutherland, S. E. 2002. Effects of embryonic exposure to ethanol on zebrafish visual function. *Neurotoxicology and teratology*. 24(6): 759-766.
- European Directive 2010/63/EU. 2010. Of the European parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the EU* 276: 33–79.
- Fernandez E., Janowich M. 2013. Effects of ethanol dosage and ascorbic acid antioxidant therapy on embryonic chick development. *Graduation Thesis*.
- Guyton A. C., Hall J. E. 2006. *Textbook of Medical Physiology*; 11th Edition. Saunders: Elsevier.
- Sun Y., Fang, Y., Xu X., Lu G. and Chen Z. 2015. Evidence of an association between age-related functional modifications and pathophysiological changes in zebrafish heart. *Gerontology* 61: 435-44.
- Hill A.J., Bello, S.M. Prash, A.L. Peterson R.E., i Heideman, W. 2004. Water permeability and TCDD-induced edema in zebrafish early-life stages. *Toxicological Sciences* 78 (1): 78–87.
- Laktašić-Žerjavić N., Anić B., Grazio S. 2008. Vitamin D za snažne kosti. *Reumatizam*; 55: 111-112.
- Lammer, E., Carr, G.J., Wendler, K., Rawlings, J.M., Belanger, S.E., i Braunbeck, T. 2009. Is the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test? *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 149 (2): 196–209.
- Lawrence C. 2015. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture*. 269 (1–4): 1–20.
- Lee J., Cao H., Kang B. J., Jen N., Yu F., Lee C.A., Fei P., Park J., Bohlool S., Lash-Rosenberg L. 2014. Hemodynamics and ventricular function in a zebrafish model of injury and repair. *Zebrafish* 11: 447-454.
- Mpandzou G., Ait Ben Haddou E., Regragui W., Benomar A., Yahyaoui M. 2016. Vitamin D deficiency and its role in neurological conditions: A review 172(2):109-22.
- Muralidharan P., Sarmah S. 2015. Zebrafish retinal defects induced by ethanol exposure are rescued by retinoic acid and folic acid supplement 49(2):149-63.
- Nüsslein-Volhard C., Dahm, R. 2002. *Zebrafish: a practical approach*. New York: Oxford University Press.: 303.
- Pećina-Hrnčević A., Buljan Lj. 1991. Fetalni alkoholni sindrom- prikaz slučaja. *Acta stomatologica Croatia* 25(4): 253-258.
- Peng Y., Kwok K., Yang P., Liu J., Wong O., He M., Kung H., Lin M. 2005. Ascorbic acid inhibits ROS production, NF-kappa B activation and prevents ethanol-induced growth retardation and microcephaly. *Neuropharmacology* 48(3):426-34.
- Zergollern Lj. i sur. 1986. *Medicinska genetika*, Školska knjiga, Zagreb.

UTJECAJ KOFEINA NA KLJAVOST SALATE KRISTALKE (*Lactuca sativa*)

Lucija Tomić, 8. razred

OŠ Starigrad, Starigrad Paklenica

Mentor: Ana Katalinić Bach

SAŽETAK

Kofein je proizvod koji često susrećemo u svakodnevnom životu i često ga konzumiramo, a svakim danom sve više u obliku kave. Kako bi se potvrdilo zapažanje da kavu pije sve više djece i mladih, provedena je anketa na uzorku od 3 dobne skupine koja je to potvrdila. U radu je korišten test kljivosti kako bi se utvrdio utjecaj kofeina na kljivost, rast i diobu stanica kod sjemenki salate kristalke (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.), s pretpostavkom da će kofein u nižim koncentracijama imati neutralan ili čak pozitivan utjecaj, a da će u višim koncentracijama djelovati negativno na rast i na razvoj sjemenki. Korištene su otopine čistog kofeina, koncentracije 2,5 mM, 5mM, 7,5 mM i 10 mM, te destilirana voda kao kontrola. Po 150 sjemenki salate tretirano je s 3 ml pojedine otopine kofeina ili destilirane vode te inkubirano u zatvorenim Petrijevim zdjelicama u mraku na 20 °C. Nakon 72 sata uzeti su uzorci korijena iz svake zdjelice, stanice korijena obojene standardnom tehnikom te je određen mitotski indeks. Nakon 96 sati određen je postotak kljivosti, te su kljanci izmjereni. Rezultati potvrđuju početnu hipotezu da kofein u većim koncentracijama djeluje negativno na rast biljke salate kristalke, no pretpostavka da u nižim koncentracijama djeluje neutralno ili pozitivno nije potvrđena u okviru ovog istraživanja. Testni organizmi pod utjecajem svih korištenih koncentracija kofeina bili su statistički značajno kraći od onih u kontroli, te se vrijednost medijana za duljinu klijanaca smanjivala s povećanjem koncentracije kofeina. Kofein je smanjio postotak kljivosti salate, iako između različitih koncentracija kofeina nije bilo statistički značajne razlike. Pod utjecajem kofeina smanjen je i udio dijeljenja stanica u korijenu. Ovim istraživanjem zaključujemo da kofein negativno djeluje na rast, kljivost i diobu unutar korijena salate kristalke.

Ključne riječi: kofein, salata kristalka, mitotski indeks

UVOD

Kofein je prirodni sastojak kave, čokolade i čaja te je najčešće korišten stimulans u svijetu. Primijetila sam da djeca u svakodnevnom životu sve više koriste kofein u obliku kave, što je potaknulo moje zanimanje za istraživanje ovog stimulansa. Kako bi činjenica da sve više djece i mladih konzumira kavu bila dokazana, provedena je kratka anketa na uzorku od 60 učenika osnovne škole, 60 učenika srednje škole te 60 studenata. Zna se da kofein kod ljudi utječe na budnost i koncentraciju (Stavrić, 1988), ali kakva je njegova uloga kod drugih organizama? Kofein nije prisutan u životinjskim stanicama i u životinjskom svijetu sjemenke kave se izbacuju iz probavnog sustava kao nejestivi dio ploda, no, u biljnom svijetu kofein proizvode brojne vrste biljaka, od kojih su najpoznatije kava, čajevac i kakaovac. U biljnim stanicama kofein je smješten u vakuoli, čime je biljna stanica zaštićena od njegovog toksičnog učinka. Smatra se da kofein biljkama služi za zaštitu, a ima i antibakterijsko djelovanje (Mohammed i Al-Bayati, 2009). Toksičnost kofeina štiti biljku od nametnika, a gorki okus lišća i sjemenki je štiti od biljoždera. Znanstvenici su dokazali da i male količine kofeina u nektaru biljke koja ga proizvodi utječu da pčele oprašivači bolje zapamte takvu biljku od one bez kofeina pa joj se i češće vraćaju i više je oprašuju (Wright i sur., 2013). Ovi podaci ukazuju na to da kofein može imati i pozitivan i negativan utjecaj na žive organizme, a to uglavnom ovisi o koncentraciji kofeina. Te činjenice potaknule su istraživanje djelovanja različitih koncentracija kofeina na biljne stanice. Za istraživanje je odabran test kljivosti koji se već godinama koristi za određivanje utjecaja neke strane tvari na rast i razvoj biljaka, a kao testni organizam uzeta je salata glavatica *Lactuca sativa* var. *Capitata* L., kultivar kristalka. Da bi sama sjemenka proklijala, potrebna je povoljna temperatura i opskrbljenost vodom. Kada sjemenka



upije vodu enzimi postaju aktivni te se ubrzava rad metabolizma koji stvara energiju. Stvorena energija omogućuje sjemenu klijanje (Hangarter, 2000).

Podaci iz literature ukazuju na negativan učinak kofeina na klijavost biljnih stanica (Chandler, 2015; Oravitz, 2016). Neki autori navode negativan učinak kofeina tek pri višim koncentracijama, no u nekim radovima dokazano je da kava može imati i pozitivan učinak na rast nekih biljaka, ali ne i na postotak klijavosti (Joza, 2016), iako je utjecaj kave na biljke mogao biti rezultat i drugih sastojaka kave osim kofeina. Bonsignore i Hepler (1985) pokazali su da kofein izaziva greške u citokinezi, odnosno završnoj fazi mitoze u kojoj se formira stanična ploča između dvije novonastale jezgre, koja kasnije postaje stanična stijenka. Početna hipoteza istraživanja bila je da će kofein imati utjecaj na klijavost i na rast biljke, te na dijeljenje stanica u korijenu. Pretpostavljeno je da kofein u nižim koncentracijama neće negativno djelovati ili će čak pozitivno djelovati na klijavost i diobu stanica, ali da će u višim koncentracijama djelovati negativno. Time bi se dokazalo da je kofein tvar koja može imati i pozitivan i negativan učinak, ovisno o količini kojoj su stanice izložene. Sukladno istraživanju Bonisignore i Hepler (1985) zaključeno je da će se tijekom mitoze pojavljivati sve više aberacija, odnosno pogrešaka pri dijeljenju stanice.

Ciljevi istraživanja bili su:

- istražiti udio ispitanika koji konzumiraju kavu
- istražiti učestalost ispijanja kave kod ispitanika koji ju konzumiraju
- istražiti utjecaj različitih koncentracija kofeina na klijavost sjemenki salate kristalke
- istražiti utjecaj različitih koncentracija kofeina na duljinu klijanaca salate kristalke
- istražiti utjecaj različitih koncentracija na brojnost stanica u diobi u korijenima proklijalih sjemenki salate kristalke.

METODE RADA

Istraživanje je provedeno u šest faza:

1. Anketa
2. Pilot projekt
3. Priprema različitih koncentracija otopine kofeina
4. Testiranje klijavosti sjemenki salate pod utjecajem različitih koncentracija otopine kofeina
5. Mikroskopiranje i računanje mitotskog indeksa u stanicama korjenčića
6. Statistička obrada podataka.

Materijali, kemikalije i pribor korišteni u istraživanju popisani su u tablici 1.

Tablica 1 Popis pribora, kemikalija i materijala potrebnih za istraživanje

PRIBOR	KEMIKAJIJE	MATERIJAL
Petrijeve zdjelice, filter papir	destilirana voda	netretirane sjemenke salate glavatice (<i>Lactuca sativa</i> var. <i>capitata</i> L.), kultivar kristalka, proizvođač Impex
kapaljke, pipete, menzure	čista kemikalija kofein, proizvođač Amresco, Inc.	
pomična mjerka	99,5 % octena kiselina	
svjetlosni mikroskop, kamera	45 % octena kiselina	
predmetno i pokrovno stakalce	Orcein	
skalpel	45 % klorovodična kiselina	
digitalna vaga		



Uzorak na kojem je provedena anketa su peti, šesti, sedmi i osmi razredi Osnovne škole Starigrad (60 učenika), učenici od prvog do četvrtog razreda Srednje medicinske škole u Zadru (60 učenika) i studenti Sveučilišta u Zadru (60 studenata). Anketom je istraženo koliko različite dobne skupine djece i mladih piju kavu te koliko često. Anketa je provedena u studenom 2017. godine putem internetskih upitnika kako bi se potvrdilo zapažanje da sve više mladih konzumira kavu. Dobiveni rezultati potaknuli su daljnje istraživanje jednog od sastojaka kave, odnosno kofeina.

Pilot projekt proveden je kako bi utvrdili koliko vremena treba salati glavatici (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.), kultivar kristalka, da iskljuje u uvjetima planiranim za glavno istraživanje. U Petrijeve zdjelice stavljen je filter papir te na njega 50 sjemenki salate. Sjemenke su polivene s 3 mililitra destilirane vode. Petrijeve zdjelice sa salatnom inkubirane su poklopljene na 20 °C. Iz pilot projekta zaključeno je da će inkubacija trajati 96 sati, odnosno 4 dana. Pilot projekt proveden je u siječnju 2018. godine.

Kako bi otopine kofeina različitih koncentracija mogle biti testirane, prvo je potrebno odrediti koncentracije. Za izradu otopina različitih koncentracija korištena je destilirana voda i čista kemikalija kofeina koju smo dobili donacijom Znanstveno edukacijskog centra Višnjan. Bonsignore i Hepler (1985) navode da je 5mM otopina kofeina pokazala značajan utjecaj na citokinezu, te je zbog toga određen raspon od četiri koncentracije, odnosno $c_1 = 10 \text{ mM}$, $c_2 = 7,5 \text{ mM}$, $c_3 = 5 \text{ mM}$, $c_4 = 2,5 \text{ mM}$. Kako bi bilo izračunato koliko grama kofeina ide u litru vode, korištena je sljedeća formula:

$$C = \frac{n}{v}$$

Dok je u toj formuli:

$$n = \frac{m}{Mr}$$

Iz toga slijedi:

$$C = \frac{\frac{m}{Mr}}{v}$$

Relativna molekulska masa (Mr) čiste kemikalije kofeina iznosi 194,19 g/mol. Priređene su otopine od 1 litre (v). Potrebne milimolarne otopine bilo je potrebno preračunati u molarne te iz toga slijedi:

$$c_1 = 10 \text{ mM} = 0,01 \text{ M}$$

$$c_3 = 5 \text{ mM} = 0,005 \text{ M}$$

$$c_2 = 7,5 \text{ mM} = 0,0075 \text{ M}$$

$$c_4 = 2,5 \text{ mM} = 0,0025 \text{ M}$$

Kada se svi poznati podaci uvrste u formulu, dobiveni rezultati su sljedeći:

$$c_1 = 1,94 \text{ g/L kemikalije kofeina}$$

$$c_3 = 0,97 \text{ g/L kemikalije kofeina}$$

$$c_2 = 1,46 \text{ g/L kemikalije kofeina}$$

$$c_4 = 0,49 \text{ g/L kemikalije kofeina}$$

Dobivene vrijednosti pomiješane su u litri destilirane vode. Otopine su čuvane u litrenim bocama izvana obloženim aluminijskom folijom jer je kofein fotosenzibilan, odnosno osjetljiv na svjetlost.

Nakon izrade otopina, odvojene su 3 Petrijeve zdjelice po koncentraciji, te 3 Petrijeve zdjelice za destiliranu vodu koja je korištena kao negativna kontrola. U svaku je Petrijevu zdjelicu stavljen filter papir te je prebrojano 50 sjemenki za svaku zdjelicu. Na kraju je u svaku zdjelicu stavljeno po 3 mililitra testne otopine. Zatvorene Petrijeve zdjelice postavljene su na mračno mjesto kako bi taj čimbenik klijanja bio stalan. Inkubacija je trajala 96 sati (4 dana).



Nakon inkubacije, klijanci su prebrojani i izmjereni pomoću pomične mjerke. Radi lakše usporedbe podataka duljine klijanaca, duljina je izražena u postotcima. Medijan duljine biljke pod utjecajem destilirane vode izražen je kao 100 %, a ostali postotci računati su tako da je podijeljen medijan duljine klijanaca pod utjecajem koncentracije koju izražavamo s medijanom duljine klijanaca pod utjecajem destilirane vode. Izračunat je postotak klijavosti naše salate tako da je podijeljen broj proklijalih sjemenki s ukupnim brojem sjemenki stavljenih u Petrijevu zdjelicu (50). Nakon 72 sata inkubacije iz svake skupine uzet je jedan uzorak korjenčića te su pripremljeni mikroskopski preparati tako zvanom „squash“ tehnikom (Sharma i Sharma, 1990). Nakon odvajanja od ostatka korijena, odrezani dijelovi stavljeni su u koncentriranu octenu kiselinu (99,5 %) u kojoj su natapani 10 minuta. Klorovodična kiselina zagrijana je na 60 °C te su u nju stavljeni korjenčići, skupina po skupina, kako se ne bi pomiješali, i ostavljeni u njoj 5 minuta. Nakon toga, stavljeni su u hladnu destiliranu vodu, također na 5 minuta i potom osušeni na filter papiru. Korjenčić je premješten na predmetno stakalce te je na njega stavljena kap orceinskog bojila; boje koja je napravljena miješanjem 2 % orceina u 45 % - tnoj octenoj kiselini. Korijen je ostavljen u boji 2 minute te je višak boje isisan kapaljkom. Korijen je pokriven pokrovnim stakalcem te je pomoću palca pritisnut kako bi se stanice rasporedile u jedan sloj, jer se tako najbolje vide jezgre. Mitotski indeks računat je pomoću sljedeće formule:

$$\text{mitotski indeks} = \frac{\text{broj prebrojanih stanica u mitozu}}{\text{ukupan broj prebrojanih stanica}}$$

Statistička obrada podataka napravljena je u programu Microsoft Excel i TIBCO Statistica. Od statističkih pojmova korišteni su:

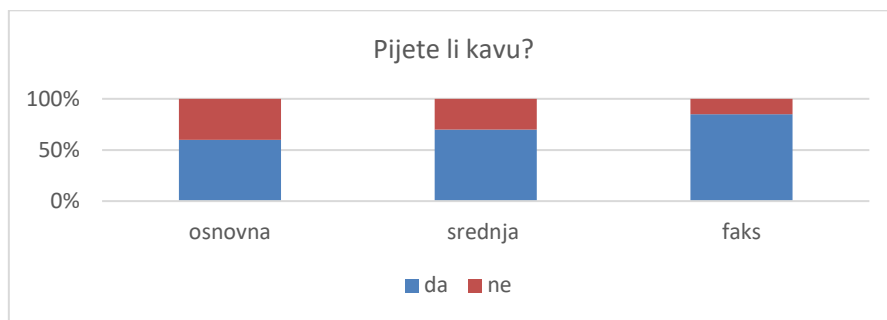
- **Srednja vrijednost**
Aritmetička sredina je količnik svih zbrojenih vrijednosti sa njihovim brojem.
- **Medijan**
Medijan je korišten u slučaju da podaci nisu simetrično raspoređeni. Medijan se računa tako da se vrijednosti poredaju od najmanje do najveće te se odredi vrijednost koja je točno u sredini. U slučaju da je broj vrijednosti bio paran, uzete su dvije srednje vrijednosti, zbroje se i podjele sa 2.
- **Standardna devijacija**
Standardna devijacija je raspršenost podataka, odnosno broj koji pokazuje koliko prosječno odskaku podaci vrijednosti od srednje vrijednosti.
- **Kruskall Wallis test**
Zbog neparametrijski distribuiranih podataka korišten je Kruskall Wallis test. Test se koristi kako bi se utvrdila statistička značajnost neparametrijski distribuiranih podataka. Test je proveden u programu TIBCO Statistica.

REZULTATI

Rezultate smo podijelili u četiri skupine: anketa, pilot projekt, testiranje klijavosti sjemenki salate pod utjecajem različitih koncentracija otopine kofeina, mikroskopiranje i računanje mitotskog i aberacijskog indeksa u stanicama korjenčića.

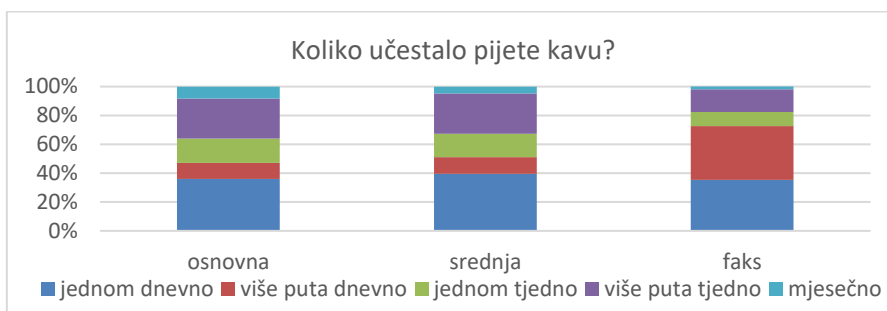
Anketa

Rezultati ankete su pokazali da u ispitanom uzorku čak 60 % osnovnoškolaca, 70 % srednjoškolaca i 85 % studenata pije kavu (slika 1).



Slika 1 Udio ispitanika koji konzumiraju kavu

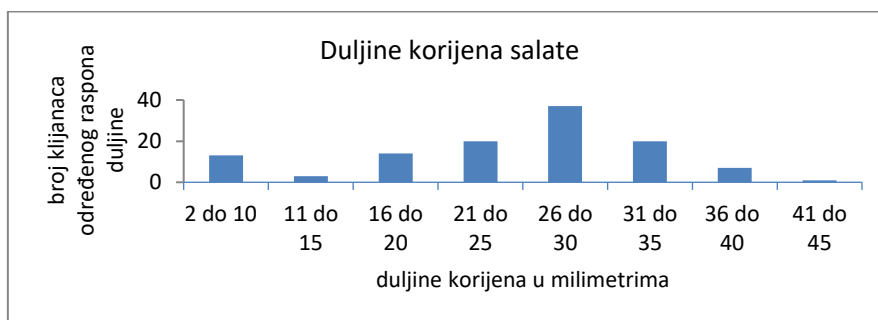
Od toga, 36 % osnovnoškolaca pije kavu jednom dnevno, a njih 11 % više puta dnevno. Ostali osnovnoškolci koji piju kavu, izjavili su da piju kavu tjedno ili mjesečno. Od 70 % srednjoškolaca koji piju kavu, njih 40 % kavu pije jednom dnevno, a 12 % više puta dnevno. Ostali kavu piju tjedno ili mjesečno. Od studenata koji piju kavu, pokazali su se kao najbrojniji oni koji ju konzumiraju više puta dnevno, odnosno njih 37 %, a jednom dnevno kavu pije 35 % studenata. Ostali studenti piju kavu tjedno ili mjesečno (slika 2).



Slika 2 Učestalost konzumiranja kave među ispitanicima

Pilot projekt

Klijanci salate brojani su i mjereni nakon inkubacije od 96 sati (slika 3). Srednja vrijednost izračunate klijavosti salate u destiliranoj vodi bila je 77 %. Srednja vrijednost duljine izrasle biljke iznosila je 24,7 mm. S obzirom na to da rezultati nisu simetrično raspoređeni računat je i medijan. U ovom uzorku on je iznosio 27 mm. Standardna devijacija, odnosno raspršenost podataka prosječno je iznosila 9,23.

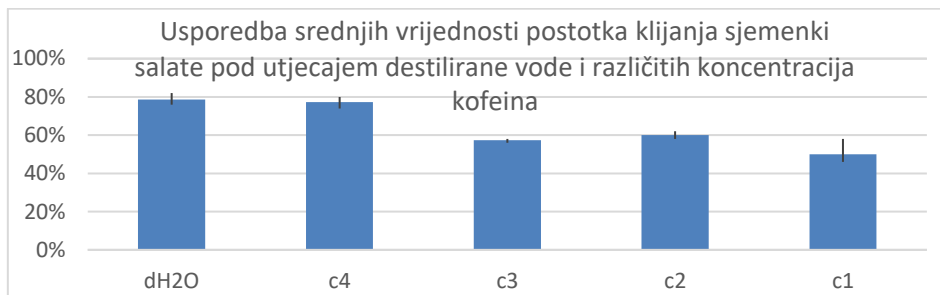


Slika 3 Duljine klijanaca u milimetrima pod utjecajem destilirane vode

Testiranje klijavosti sjemenki salate pod utjecajem različitih koncentracija otopine kofeina

Klijavost sjemenki salate

Srednja vrijednost klijavosti u Petrijevim zdjelicama s destiliranom vodom iznosila je 79 %. U svim koncentracijama kofeina klijavost je bila manja nego u destiliranoj vodi (slika 6.). Najmanju je klijavost imala otopina s najvećim udjelom kofeina (c_1), a ona je iznosila 50 %. Klijavost sjemenki tretiranih s koncentracijom c_4 (2,5 mM) razlikovala se od klijavosti sjemenki držanih u destiliranoj vodi za samo 2 %, odnosno iznosila je 77 %.



Slika 6. Usporedba srednjih vrijednosti postotka klijanja sjemenki salate pod utjecajem destilirane vode i različitih koncentracija kofeina ($C_1 = 10$ mM, $C_2 = 7,5$ mM, $C_3 = 5$ mM, $C_4 = 2,5$ mM)

Razlika u postotku klijavosti s obzirom na razinu kofeina je statistički značajna (tablica 2).

Tablica 2 Testiranje razlika u postotku klijavosti s obzirom na razinu kofeina

Grupa	N	Artimetička sredina (mm)	Medijan postotka klijavosti	Srednji rang
d H ₂ O	3	79%	78%	12,83
c ₄ (2,5mM)	3	77%	78%	12,17
c ₃ (5mM)	3	57%	58%	4,67
c ₂ (7,5mM)	3	60%	60%	7,5
c ₁ (10mM)	3	50%	46%	2,83

Kruskal-Wallis test: $H(4, N = 15) = 12,075$, $p = ,0168$

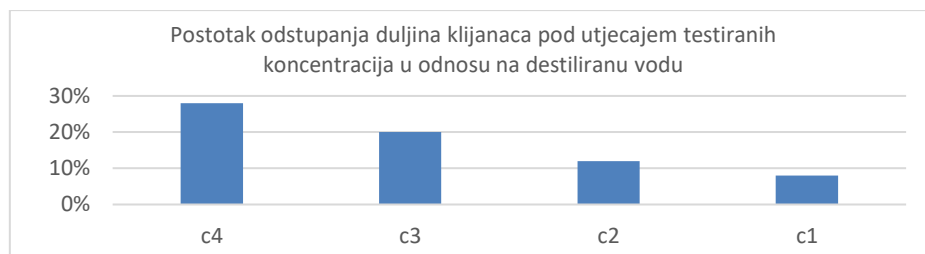
Duljina klijanaca

Mjerenja duljine klijanaca pri različitim koncentracijama kofeina su prikazana tablici 3. Tablica sadrži medijane duljina klijanaca u tri Petrijeve zdjelice za svaku od testiranih otopina i ukupan medijan svih duljina jedne testirane otopine.

Tablica 3 Prikaz medijana duljina klijanaca (mm) pod utjecajem testiranih koncentracija kofeina ($C_1 = 10$ mM, $C_2 = 7,5$ mM, $C_3 = 5$ mM, $C_4 = 2,5$ mM)

	medijan - 1. Petrijeva zdjelica	medijan - 2. Petrijeva zdjelica	medijan - 3. Petrijeva zdjelica	medijan svih mjera ukupno
destilirana voda	31	22	24	25
C1	2	2	2	2
C2	3	4	3	3
C3	5	6	5	5
C4	7	6	7	7

Slika 4 prikazuje odstupanje duljine klijanaca u testiranim otopinama od onih u destiliranoj vodi. Postotak je dobiven dijeljenjem medijana testirane otopine s medijanom destilirane vode te je rezultat pomnožen sa 100 kako bi se od decimalnog broja dobio postotak.



Slika 4 Odstupanje medijana duljine klijanaca pod utjecajem testiranih koncentracija kofeina u odnosu na destiliranu vodu ($C_1 = 10 \text{ mM}$, $C_2 = 7,5 \text{ mM}$, $C_3 = 5 \text{ mM}$, $C_4 = 2,5 \text{ mM}$)

Medijan svih duljina klijanaca u destiliranoj vodi bio je 25 mm. Iz slike 5 je vidljivo da se duljine klijanaca razlikuju. To je potvrđeno Kruskal Wallis testom (tablica 4) koji ukazuje na to da su razlike u duljini klijanaca pod utjecajem destilirane vode i različitih koncentracija kofeina statistički značajne.



Slika 5 Usporedba duljine klijanaca iz testiranih koncentracija kofeina ($C_1 = 10 \text{ mM}$, $C_2 = 7,5 \text{ mM}$, $C_3 = 5 \text{ mM}$, $C_4 = 2,5 \text{ mM}$) i destilirane vode

Među otopinama kofeina, najveći su klijanci bili u otopini c4 (2,5 mM), njihov medijan je iznosio 7 mm (tablica 4). Rast je najviše usporila koncentracija c1 (10 mM), pri kojoj je medijan svih duljina iznosio 2 mm. Medijani koncentracija c3 (5 mM) i c2 (7,5 mM) iznosili su redom 5 i 3 mm.

Tablica 4 Testiranje razlika u duljini klijanca s obzirom na razinu kofeina

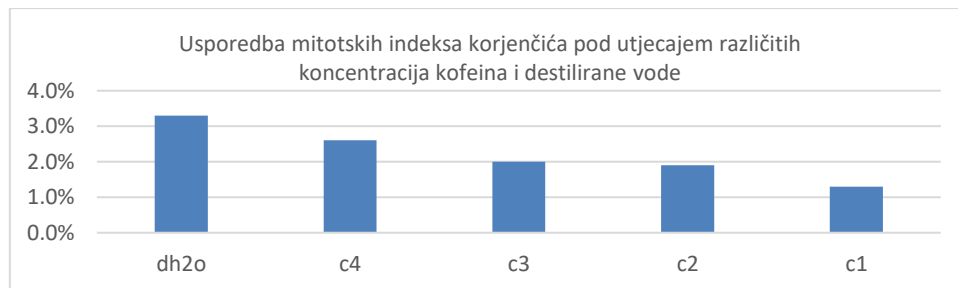
Grupa	N	Aritmetička sredina (mm)	Medijan (mm)	Srednji rang
dH ₂ O	118	24,03	25	402,97
c ₄ (2,5mM)	116	6,53	7	272,84
c ₃ (5mM)	86	5,21	5	231,87
c ₂ (7,5mM)	90	3,50	3	144,55
c ₁ (10mM)	75	2,31	2	76,05

Kruskal-Wallis test: $H(4, N = 485) = 313,12, p < 0,01$

Mikroskopiranje i računanje mitotskog indeksa u stanicama korjenčića

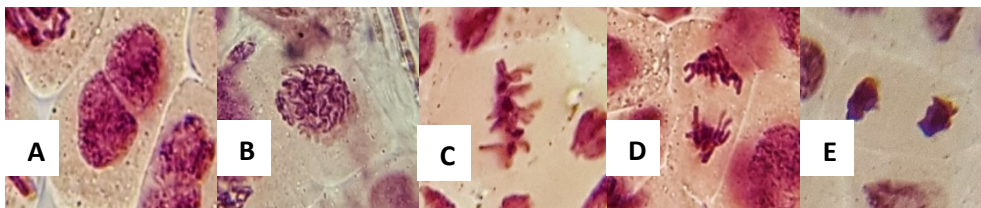
Od uzoraka korijena uzetih nakon 72 sata, napravljeni su trajni preparati. Izračunat je mitotski indeks (slika 7) koji je u destiliranoj vodi iznosio 3,3 %. Svi su korjenčići pod utjecajem različitih koncentracija kofeina imali manji mitotski indeks u odnosu na korjenčiće u destiliranoj vodi. Od svih koncentracija

kofeina, najviši postotak stanica u mitozu imala je koncentracija c_4 (2,5 mM), odnosno 2,6 %. Najmanji mitotski indeks izračunat je u korjenčićima pod utjecajem koncentracije c_1 (10 mM) koji je iznosio 1,3 %. Mitotski indeks u korjenčićima pod utjecajem koncentracija c_3 i c_2 iznosio je redom 2,0 % i 1,9 %.



Slika 7 Usporedba mitotskih indeksa u korjenčićima pod utjecajem različitih koncentracija kofeina ($C_1 = 10$ mM, $C_2 = 7,5$ mM, $C_3 = 5$ mM, $C_4 = 2,5$ mM) i destilirane vode

Tijekom brojenja stanica, slikani su preparati te su uočene aberacije u mitozu, odnosno stanice s dvije jezgre (slika 8). Također, slikom su zabilježene pojedine faze mitoze (Slike 8.).



Slika 8 Aberacije i faze mitoze u korjenčićima salate: A) dvojezgrenost stanice (koncentracija c_1) B) profaza (destilirana voda) C) metafaza (destilirana voda) D) anafaza (destilirana voda) E) telofaza (destilirana voda)

RASPRAVA

Provedenom anketom potvrđeno je da većina djece i mladih konzumira kofein u obliku kave. Dok većina srednjoškolaca i osnovnoškolaca kavu konzumira jednom dnevno, studenti običavaju piti kavu više puta dnevno. Udio ispitanika koji konzumiraju kavu (slika 1), kao i učestalost konzumiranja (slika 2) proporcionalan je starosti ispitanika. Ovi rezultati odgovaraju mojim zapažanjima iz svakodnevnog života.

Usporedbom aritmetičkih sredina postotka klijanja sjemenki salate pod utjecajem testiranih koncentracija kofeina i destilirane vode (slika 6.) uočljivo je odstupanje koncentracije c_2 (7,5 mM). Odstupanje može biti rezultat pogreške pri brojanju sjemenki salate, no mala je vjerojatnost da se dogodila ista pogreška u sva tri ponavljanja. Na temelju tih rezultata nije moguće zaključiti da koncentracija c_2 (7,5 mM) više potiče klijavost od koncentracije c_3 (5 mM).

Klijavost sjemenki je, izuzev koncentracije c_2 , obrnuto proporcionalna koncentraciji otopine kofeina o čemu možemo sa sigurnošću raspravljati jer su rezultati Kruskal Wallis testa pokazali da postoji statistički značajna razlika među testiranim koncentracijama (tablica 2). Povećanjem udjela kofeina u testiranoj koncentraciji, smanjuje se postotak klijavosti sjemenki, što su dokazala i istraživanja na mungo grahu (Oravitz, 2016). Ovi rezultati također potvrđuju početnu hipotezu negativnog djelovanja kofeina na rast biljke.



Razmatrajući odstupanje duljina klijanaca pod utjecajem testiranih koncentracija kofeina od destilirane vode (slika 4), uočljiva je linearnost podataka. Između različitih koncentracija kofeina i kontrole postoji statistički značajna razlika (tablica 4) te se može zaključiti da se povećanjem udjela kofeina u testiranim koncentracijama smanjuje duljina klijanaca. Ovime je potvrđena pretpostavka da će kofein djelovati na rast biljke.

Istražujući slične pretpostavke za biljku mungo graha Chandler (2015) je također zaključio da kofein negativno djeluje na duljinu klijanaca i klijavost te da negativan učinak raste proporcionalno s koncentracijom kofeina.

Na slici 5 prikazana je usporedba klijanaca nakon 96 sati inkubacije pod utjecajem različitih koncentracija kofeina i kontrole te je jasno vidljiva razlika u duljini klijanaca.

Jedna od hipoteza projekta, na temelju istraživanja graha (Joza, 2016), bila je da će kofein u manjim koncentracijama poboljšati rast biljke, odnosno ubrzati ga, no ta hipoteza nije potvrđena u okviru korištenih koncentracija. S obzirom da Joza (2016) nije koristila čisti kofein nego mješavinu kave, moguće je da je pozitivan utjecaj na klijavost uzrokovao neki drugi sastojak mješavine, a ne sam kofein. Također, za daljnje istraživanje ostaje provjeriti još niže koncentracije kofeina od onih korištenih u ovom radu.

Uspoređujući mitotske indekse u korjenčićima pod utjecajem različitih koncentracija kofeina i destilirane vode (slika 7), uočljivo je da se mitotski indeks smanjuje kako udio kofeina u otopini raste što je u skladu s prethodnim rezultatima za klijavost i duljinu klijanaca.

Mitotski indeks na preparatima korjenčića koji su bili pod utjecajem destilirane vode bio je 3,3 %, dok je u literaturi (Palmieri i sur., 2013) on iznosio čak 5,2 %.

U istom su istraživanju Palmieri i sur. (2013) zaključili da različiti toksini negativno djeluju na diobu stanica u korjenčićima salate. Temeljem rezultata ovog istraživanja može se zaključiti da kofein također smanjuje udio stanica u diobi u korjenčićima testnog organizma.

Projekt bi mogao biti proširen:

- testiranjem koncentracija s manjim udjelom kofeina u otopini te tako istražiti utječu li vrlo male koncentracije na klijavost sjemenki i/ili duljinu klijanaca jer je klijavost vrlo slična u vodi i u najmanjoj koncentraciji kofeina (2,5 mM), iako je ta koncentracija ipak djelovala negativno na rast klijanaca
- povećavanjem uzorka za izračunavanje klijavosti kako bi se dobili vjerodostojniji rezultati statističke analize
- istraživanjem utjecaja kofeina na druge vrste biljaka.

ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti:

- ☼ većina djece i mladih u ispitanom uzorku konzumira kavu
- ☼ učestalost ispijanja kave i broj ispitanika koji ju konzumiraju proporcionalan je njihovoj dobi
- ☼ kofein negativno utječe na klijavost sjemenki salate kristalke



- ☼ klijanci salate sve su kraći povećavanjem udjela kofeina u otopini
- ☼ kofein smanjuje udio stanica koje se dijele u korjenčićima salate kristalke te je postotak obrnuto proporcionalan količini kofeina u otopini.

LITERATURA

- Bonignore C.L., Hepler P.K. 1985. Caffeine Inhibition of Cytokinesis: Dynamics of Cell Plate Formation-Deformation in vivo. *Protoplasma* 129: 28-35.
- Chandler E. 2015. Effects of caffeine on plant germination, <https://docslide.net/documents/the-effects-of-caffeine-on-plant-germination-by-erin-chandler.html>, pristupljeno 01.11.2017.
- Hangerter, P. R. 2000. Seed germination, <http://plantsinmotion.bio.indiana.edu/plantmotion/earlygrowth/germination/germ.html>, pristupljeno: 22.04.2018.
- Joza P. 2016. Utjecaj kave i Fis cole na rast i razvoj graha. *Bioznalac* 2016: 13-21.
- Mohammed, M.J., Al-Bayati F.A. 2009. Isolation, identification and purification of caffeine from *Coffea arabica* L. and *Camellia sinensis* L.: A combination antibacterial study. *International Journal of Green Pharmacy*. doi: 10.4103/0973-8258.49375
- Oravitz T. 2016. Caffeine's effect on mung bean germination and growth, <https://dokumen.tips/documents/caffeines-effect-on-mung-bean-germination-and-growth-todd-oravitz-9-th-grade.html>, pristupljeno 01.02.2018.
- Palmieri M.J., Luber J., Andrade-Vieira L.F., Davide L.C. 2013. Cytotoxic and phytotoxic effects of the main chemical components of spent pot-liner: A comparative approach
- Sharma A. K., Sharma A. 1990. *Chromosome Techniques - theory and practice*. 3. London: Butterworths.
- Stavrić, B. 1988. Methylxanthines: toxicity to humans. 2. Caffeine. *Food Chem Toxicol.* 26(7):645-62.
- Wright G.A., Baker D.D., Palmer M.J., Stabler D, Mustard J.A., Power E.F., Borland A.M. i Stevenson P.C. 2013. Caffeine in floral nectar enhances a pollinator's memory of reward. *Science* 339(6124): 1202–1204.

USPOREDBA SASTAVA I ANTIMIKROBNOG UČINKA RAZLIČITIH OTOPINA PROPOLISA

David Bendelja, 2. razred

Franjo Križaić, 2. razred

Gimnazija Josipa Slavenskog Čakovec, Čakovec

Mentor: Žaklin Lukša

SAŽETAK

Velika važnost pridaje se istraživanjima novih antimikrobnih tvari, posebice iz prirodnih izvora poput propolisa. Otopine propolisa nalaze se na tržištu kao dodatci prehrani te za njih nije obvezno deklariranje udjela aktivnih sastojaka. Istraživanjem se želi utvrditi kolike su razlike u sastavu dostupnih proizvoda na tržištu, posebice u količini aktivnih sastojaka, te postoje li razlike u njihovom antimikrobnom učinku. Ispitivano je osam uzoraka otopina propolisa u kojima je određen udio suhe tvari, razlike u sastavu uzoraka metodom tankoslojne kromatografije te određivanje ukupnih fenola prema količini kavenne kiseline. Ispitane su razlike u antimikrobnom djelovanju uzorka prema gram-pozitivnoj bakteriji *Bacillus subtilis* i gljivici *Saccharomyces cerevisiae*. Rezultati istraživanja pokazali su da se udio suhe tvari razlikuje u ispitivanim otopinama propolisa i kreće se od 5 do 29 %. Antimikrobno djelovanje prema zoni inhibicije kod *Bacillus subtilis* kreće se od 17,0 do 20,3 mm, a na *Saccharomyces cerevisiae* od 12,7 do 15,3 mm. Ispitivani uzorci otopina propolisa sadrže različite udjele djelatnih tvari (kvercetin, apigenin, krizolaminarin, naringenin, kavena kiselina), kao i različite ukupne količine fenola. Utvrđena je umjerena do dobra povezanost između količine suhe tvari i antimikrobnog djelovanja na bakteriju *Bacillus subtilis*, a slaba povezanost na gljivicu *Saccharomyces cerevisiae*. Postoji jaka korelacija između antimikrobnog djelovanja ispitanih uzoraka otopina propolisa i udjela aktivnih sastojaka u njima. Rezultati pokazuju veće korelacije u odnosu aktivnih sastojaka i antimikrobnog djelovanja otopina propolisa od korelacija suhe tvari i antimikrobnog djelovanja otopina propolisa. Za potpunije rezultate trebalo bi napraviti više ponavljanja i koristiti kvantitativne metode analize aktivnih sastojaka u otopinama propolisa. No i ovi rezultati ukazuju na potrebu dodatnog označavanja aktivnih sastojaka ovih proizvoda na tržištu kako bi bilo jasnije na koji način takvi proizvodi stvarno djeluju na naše zdravlje.

Cljučne riječi: *aktivni sastojci, suha tvar, tankoslojna kromatografija, flavonoidi, fenolne kiseline*

UVOD

Iako je otkriće antibiotika unijelo pravu revoluciju u liječenje bolesti koje izazivaju mikroorganizmi, njihova brza prilagodba na antibiotike tjera znanstvenike na nova istraživanja u stalnoj utrci s mikrobima. Zbog toga se velika važnost pridaje istraživanjima novih antimikrobnih tvari, posebice iz prirodnih izvora poput propolisa. Propolis je pčelinji produkt smolastih izlučevina kore i pupoljaka drveća koji pčele skupljaju uglavnom u kolovozu, rujnu i listopadu kad se spremaju za zimsko mirovanje. Pri sakupljanju propolisa pčele (*Apis mellifera*, Linnaeus, 1758) miješaju prikupljene smolaste tvari s enzimima iz svojih žlijezda slinovnica i na taj način obogaćuju kemijski sastav propolisa i čine ga jedinstvenim. Njime oblažu košnicu, zatvaraju pukotine kao obranu od uljeza te mumificiraju insekte koji su ušli u košnicu. Glavni su izvor propolisa na sjevernoj hemisferi topola i breza, a mogu biti i neke druge vrste poput jasena, hrasta, divljeg kestena, bora i sl. Ovisno o izvoru, propolis ima različitu boju, miris, oblik i kemijski sastav (Kosalec i sur., 2005).

Otopine propolisa od davnina se koriste u narodnoj medicini. Propolis djeluje antibakterijski, antifungalno, antivirusno, kao lokalni anestetik, a ispituje se i njegovo antikancerogeno te protuupalno djelovanje (Kosalec i sur., 2004). Kemijski sastav propolisa vrlo je kompleksan i razlikuje se ovisno o



biljnim smolama koje su pčele skupljale. U osnovi sadržava više od 200 sastojaka od čega otprilike 50 % otpada na biljne smole, 30 % na vosak, 10 % na esencijalna ulja, 5 % na pelud i 5 % na različite organske tvari (Sobočanec, 2006). Od organskih tvari posebno su zanimljivi flavonoidi kao jedna od skupina biljnih fenola koji čine jednu od najbrojnijih i najraširenijih skupina spojeva u biljnom svijetu. Prisutni su u svim biljnim organima (sjemenkama, koži ili kori voća, lišću i cvijeću) i imaju jako važnu ulogu u održavanju i zaštiti životnih funkcija biljaka. Koncentracija fenola u voću i povrću varira ovisno o sorti, klimatskim uvjetima i stupnju zrelosti. Ukupni fenoli određuju se metodom po Folin-Ciocalteu (KTF, 2016). Flavonoidi su najrašireniji sekundarni produkti metabolizma (ne sudjeluju u primarnom metabolizmu, npr. fotosintezi, disanju i sl.). Njihove su biološke funkcije u biljci različite: privlače insekte za oprašivanje biljke, štite od štetnih insekata, virusa i gljivica, sprječavaju djelovanje različitih enzima te utječu na oksidacijske i reduksijske procese u stanici (Sobočanec, 2006).

Antimikrobno djelovanje propolisa povezuje se s različitim fenolima, npr. flavonoidima i fenolnim kiselinama identificiranim u propolisu (Grenho i sur., 2015; Machado i sur., 2016). Tlak Gajger i suradnici (2017) metodom tankoslojne kromatografije u ekstraktu propolisa dokazali su niz flavonoida, npr. galangin, kemferol, naringenin, apigenin, kavenu kiselinu, pinocembrin, kvercetin te krizin, dok Sobočanec (2006.) u svojem istraživanju dokazuje 12 flavonoida (pinocembrin, acacetin, krizin, rutin, katehin, narginin, galangin, luteolin, kampferol, apigenin, miricetin, kvercetin) i dvije fenolne kiseline (kafainska i cimetna). Njihovo istraživanje pokazalo je da je antimikrobna aktivnost propolisa obećavajuća, ali ovisi o mnogim varijablama, kao što su sadržaj fenola i flavonoida. Posebno se ističe da uzorci propolisa s područja Hrvatske imaju različito antimikrobno djelovanje, što ukazuje da pojedini sastojci mogu različito utjecati na antimikrobnu aktivnost. Jedan je od aktivnih sastojaka koji doprinose antimikrobnim svojstvima propolisa flavonoid galangin. Međutim, usporedba izoliranoga galangina u usporedbi s ekstraktom propolisa ima slabije djelovanje. Kao mogući razlog navodi se mogućnost uzajamno pozitivnog (sinergističkog) djelovanja različitih sastojaka propolisa u odnosu na izolirani galangin (Kosalec i sur., 2004). Uočena je povezanost antimikrobnog djelovanja propolisa s koncentracijom različitih flavonoida u uzorcima pa što je njihov udio veći, i djelovanje je bolje (Kosalec i sur., 2005). U istraživanju Kosaleca i suradnika (2003) usporedba uzoraka propolisa prema mjestu sakupljanja pokazala je postojanje razlika u zastupljenosti nekih flavonoida. Pretpostavka je da na učinak značajnije utječu sinergistička djelovanja svih komponenti nego samo količina pojedinog flavonoida (Kosalec i sur., 2003; Kosalec i sur., 2005). Stoga su potrebna dodatna istraživanja tih odnosa kako bi se utvrdilo sinergijsko djelovanje među pojedinim komponentama propolisa (Tlak Gajger i sur., 2017). U istraživanjima antimikrobnog djelovanja pokazalo se da je propolis učinkovitiji prema gram-pozitivnim bakterijama nego prema gram-negativnim bakterijama (Tlak Gajger i sur., 2017).

Kromatografija je analitička metoda za odvajanje različitih tvari iz smjese. Temelji se na različitoj raspodjeli komponenti uzoraka između dvije faze od kojih je jedna nepokretna (stacionarna), a druga pokretna (mobilna). Stacionarna faza može biti čvrsta ili tekuća, a mobilna tekuća ili plinovita. Komponente se pod utjecajem mobilne faze kreću stacionarnom fazom različitom brzinom i tako se razdvajaju. U ovom se istraživanju koristi tankoslojna kromatografija. Ona se može izvoditi na staklenoj, metalnoj ili plastičnoj pločici presvučenoj tankim slojem krutog adsorbensa. Pri tankoslojnoj kromatografiji najčešće primjenjujemo silikagel kao stacionarnu fazu, dok je mobilna faza neko organsko otapalo. Vrlo mala količina otopljenog uzorka nanese se kapilarom na stacionarnu fazu. Pošto



otapalo ishlapi, pločica se uroni u mobilnu fazu tako da nanoseni uzorak ostane iznad razine otapala. Zbog kapilarnih sila mobilna se faza uspinje po stacionarnoj i različitim brzinama nosi tvar iz nanesenog uzorka. Mjesto na koje se nanosi uzorak zove se start, a fronta je zona najveće udaljenosti mobilne faze od starta. Kada se fronta otapala približi gornjem rubu pločice, ona se izvadi iz otapala i detektiraju se zone koje određuju mjesto pojedine komponente iz uzorka. Otopljeni organski spojevi putuju, ovisno o svojoj strukturi, određenom brzinom, no nikad brže od mobilne faze (Blažeković i Stanić, 2004).

Spektrofotometrija je metoda određivanja koncentracije nekih tvari u uzorku mjerenjem količine svjetla koju je uzorak apsorbirao. Spektrofotometar je uređaj za analizu spektra elektromagnetskog zračenja. Sastoji se od izvora zračenja, optičke rešetke i detektora. Optička rešetka omogućuje da mijenjamo i određujemo valnu duljinu koju u nekom trenutku želimo koristiti. Instrument bilježi promjene intenziteta apsorpcije zračenja svakog ispitivanog uzorka.

Antibiogram je ispitivanje osjetljivosti izoliranog i identificiranog mikroorganizma na raspoložive antibiotike ili tvari za koje pretpostavljamo da bi mogle imati antimikrobno djelovanje. Rezultati tih ispitivanja važni su za izbor pravog antibiotika u liječenju ili u istraživanjima tvari koje su mogućeg antimikrobnog djelovanja. Ipak kako se životni uvjeti razlikuju, in vivo i in vitro rezultate uvijek treba oprezno tumačiti. Događa se da se rezultati ispitivanja osjetljivosti izoliranog uzročnika bolesti prema antibioticima ne slažu s njihovim djelovanjem in vivo, u zaraženom bolesniku. Te razlike mogu biti uzrokovane raznim čimbenicima koji se nalaze samo u živom organizmu, a koji utječu na učinkovitost antibiotika.

Alkoholne otopine propolisa najčešće se koriste za liječenje infekcija usta, prehlada, kožnih infekcija i slično. Otopine propolisa nabavljaju se bez liječničkog recepta jer se na tržištu nalaze kao dodatci prehrani. Zbog toga nisu standardizirane te za njih nije obvezno deklariranje sastava, a posebno ne udjela aktivnih sastojaka. U nekim je slučajevima na proizvodima navedena količina suhe tvari, a samo na jednom proizvodu pronađen je podatak o jednom od aktivnih sastojaka. Na pakiranjima također nedostaju i podaci o geografskom podrijetlu korištenog propolisa iako istraživanja pokazuju da se oni razlikuju po svojem sastavu ovisno o podrijetlu (Tlak Gajger i sur., 2017). Tako na osnovi podataka na pakiranjima tih proizvoda nije moguće utvrditi kakvo je njihovo djelovanje. S obzirom na to da i sami često koristimo otopine propolisa, zanimalo nas je što zapravo kupujemo i kolike su razlike u sastavu dostupnih proizvoda na tržištu, posebice u količini aktivnih sastojaka, te postoje li razlike u njihovu antimikrobnom učinku.

Cilj rada je usporediti sastav i antimikrobni učinak različitih otopine propolisa. Hipoteza je da se otopine propolisa dostupne na tržištu značajno razlikuju po antimikrobnom djelovanju ovisno o udjelu suhe tvari i aktivnih sastojaka u njima.

Tijekom istraživanja ćemo ispitati:

- ☞ sadrže li ispitivani uzorci otopina propolisa s tržišta isti udio suhe tvari i djelatnih tvari (kvercetin, apigenin, krizolaminarin, naringenin, kavena kiselina)
- ☞ postoji li korelacija između antimikrobnog djelovanja otopine propolisa (zavisna varijabla) i udjela suhe tvari i aktivnih sastojaka (nezavisne varijable)



- jesu li ispitivani uzorci otopina propolisa učinkovitiji u djelovanju prema gram-pozitivnoj bakteriji *Bacillus subtilis* (Ehrenberg, 1835; Cohn, 1872) ili gljivici *Saccharomyces cerevisiae* (Meyen ex E.C. Hansen).

METODE RADA

Plan istraživanja prikazan je na slici 1.

Teorijski dio istraživanja (od listopada do prosinca):

- izbor problema i proučavanja literature
- definiranje hipoteze i ciljeva
- analiza mogućnosti školskog laboratorija i odabir primjerenih metoda istraživanja
- izbor mikroorganizama sigurnih za rad u srednjoj školi – prema uputama Microbiology Societyja (Burdass i sur., 2016.) i njihova nabavka
- proučavanje izbora otopina propolisa na tržištu.

Praktični dio istraživanja (siječanj, veljača):

- odabir uzoraka propolisa za istraživanje
- provođenje dijela laboratorijskog dijela istraživanja u školskom laboratoriju
- određivanje suhe tvari u uzorcima u trima serijama
- tankoslojna kromatografija (u trima serijama); standardi za fenole dobiveni iz Zavoda za mikrobiologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Botaničkog zavoda Biološkog odsjeka PMF-a Sveučilišta u Zagrebu
- provođenje dijela laboratorijskog dijela istraživanja u laboratoriju Zavoda za mikrobiologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
- ispitivanje antimikrobnog učinka propolisa u trima serijama na dvjema vrstama mikroorganizama (*Bacillus subtilis* i *Saccharomyces cerevisiae*)
- određivanje ukupnih fenola izraženih prema kavenoj kiselini.

Obrada dobivenih podataka (veljača, ožujak):

- statistička obrada podataka (Excel)
- usporedba s podacima iz literature
- priprema rasprave i pisanje završnog izvješća.

Slika 1 Plan istraživanja i raspored aktivnosti tijekom izvedbe projekta

Uzorci otopina propolisa izabrani za istraživanje

Ispitivanje se provodi na osam uzoraka otopina propolisa, od čega su tri uzorka domaće proizvodnje (od lokalnih pčelara), a pet laboratorijski proizvedenih i dostupnih u ljekarnama. Nakon izbora uzorci su opisani i označeni brojevima od 1 do 8 te će se na taj način dalje spominjati u radu.

Uzorak 1, 2 i 3 etanolne su otopine propolisa nabavljene od triju lokalnih pčelara i na svom pakiranju uopće ne sadrže nikakav dodatni podatak o sastavu, osim napomene da se radi o etanolnoj otopini propolisa. Uzorak 4 dostupan je u ljekarnama, a na njegovu su pakiranju podatci o sastojcima etanolne otopine propolisa s minimalno 30 mg/ml flavonoida iz propolisa. Uzorak 5 jedini nije etanolna otopina jer je namijenjen za uporabu kod djece i sadržava alkohol glicerol i minimalno 9 mg/ml flavonoida iz propolisa. Uzorak 6 ne sadržava nikakve podatke o udjelu suhe tvari ili aktivnih sastojaka, već samo podatak da se radi o etanolnoj otopini. Uzorak 7 etanolna je otopina (70 % etanol) na kojoj je označeno da sadržava 10 % propolisa, 13,4 mg flavonoida izraženih preko kavene kiseline, a od toga 3,8 mg



galangina i pinocembrina. Uzorak 8 ima naveden podatak da se radi o etanolnoj otopini s 10 % ekstrakta propolisa koji sadrži najmanje 68 % suhog ostatka.

Određivanje ukupne suhe tvari u alkoholnim otopinama propolisa

Ukupna suha tvar u svim uzorcima dobiva se sušenjem ispitivanih uzoraka otopina propolisa u sušioniku. Najprije se na analitičkoj vagi izvaže prazno satno staklo i zabilježi rezultat. Nakon toga se vaga tarira i odvaže se 1 g uzorka otopine propolisa. Postupak se ponavlja za svaki uzorak tri puta. Ekstrakt se upari do suhoće u sušioniku pri temperaturi od 110 °C tijekom jednog sata, a potom ohladi u eksikatoru (Beluhan, 2014). Nakon vaganja iz razlike se izračuna masa suhe tvari za svaki uzorak. Određivanje suhe tvari provodi se za svih osam ispitivanih uzoraka otopina propolisa.

Ispitivanje antimikrobnog učinka pripravka od propolisa (mikrobioški test metodom difuzije)

Prilikom izvođenja mikrobiološkog testa za određivanje antimikrobnog učinka uzorka propolisa koristit će se metoda difuzije (Kosalec, 2003). Bakterije/gljivice iz sterilne fiziološke otopine nasade se brisom na površinu agara. Ispitat će se antimikrobni učinak na gram-pozitivnu bakteriju *Bacillus subtilis* i gljivicu *Saccharomyces cerevisiae*. Uzorci obaju korištenih mikroorganizama dobiveni su s Farmaceutskog fakulteta u Zagrebu i radi se o čistim sojevima. Izbor mikroorganizama u skladu je s preporukama Microbiology Societyja za siguran rad s učenicima u srednjoj školi (Burdass i sur., 2016). Nakon što se mikroorganizam nasadi na površinu agara, buše se rupice od 6 mm te se u njih aplicira 50 µL pripravka propolisa koji se ispituje. Prije nanošenja na podloge ispitivani uzorci svih otopina propolisa razrijeđeni su 50 %-tnim etilnim alkoholom u omjeru 1 : 1. Djelovanje svakog uzorka propolisa ispituje se u trima serijama na svakom od izabranih mikroorganizama. Nakon inkubacije od 24 sata u termostatu na 36 °C mjere se zone inhibicije rasta. Posebno je važan i kontrolni uzorak u kojem se na podloge s mikroorganizmima umjesto alkoholnih uzoraka propolisa nanosi samo alkohol da bi se dokazalo da alkohol nije čimbenik zbog kojeg dolazi do stvaranja zone inhibicije rasta. Kontrola je aplicirana na dva načina. Jedan uzorak 70 %-tnog alkohola etanola nanesen je uz ostale uzorke na istu podlogu s mikroorganizmima, a zatim su još četiri uzorka samo 70 %-tnog alkohola etanola nanosena na zasebnu podlogu. Korištena je 70 %-tna koncentracija alkohola etanola jer je pretpostavljeno da je isti korišten u pripremi otopina propolisa iako ni na jednom od uzoraka nema podataka o koncentraciji alkohola. Nakon toga ponovi se isti postupak u termostatu kao i kod svih ostalih ispitivanja (na 36 °C, 24 sata) i na kraju se provjeri postoje li zone inhibicije rasta (Kosalec, 2003).

Metoda tankoslojne kromatografije

Za dokazivanje aktivnih tvari u propolisu (kvercetin, apigenin, krizolaminarin, naringenin, kavena kiselina), koje su prema literaturnim podacima zaslužne za njegova antimikrobna svojstva, koristi se metoda tankoslojne kromatografije. Za to se koriste aluminijske pločice presvučene tankim slojem krutog adsorbensa. Za stacionarnu fazu koristi se silikagel GF254, a za mobilnu fazu toluen, etil-acetat i mravlja kiselina u omjeru 5 : 4 : 1. Uspoređivat će se rezultati za osam različitih otopina propolisa izabranih među velikim brojem vrsta prisutnih na našem tržištu.

Na silikagelu se na oznaku 2 cm od ruba ploče nanose uzorci propolisa i standardi traženih aktivnih sastojaka propolisa (kvercetin, apigenin, krizolaminarin, naringenin, kavena kiselina) kako bismo ih prema njihovoj boji i položaju mogli identificirati u ispitivanim uzorcima. Svaki se uzorak propolisa prije nanošenja razrjeđuje alkoholom u omjeru 1 : 1 kako bi lakše difundirao. Uzorci se nanose ravnim



potezima po crti, u dužini od oko 1 cm s pomoću kapilara, a razmak između pojedinih nanosa iznosi oko 1 cm. Nakon toga pločice se stavljaju u mobilnu fazu koja djeluje oko 45 minuta koliko je potrebno da se mobilna faza podigne do pred kraj pločice (označi se 2 cm od gornjeg ruba). Tada se pločica vadi iz otapala i nakon kratkog sušenja poprskana naturstoffom (NST) i propilen-glikolom koji pojačavaju svojstva fluorescencije. Postupak se provodi u digestoru. Kromatogram se nakon pregleda i fotografira pod UV lampom (UVA - Philips TLD Actinic 18W G13) te se kvalitativno analizira na način da se u tablicu bilježe usporedbe prugastih boja s izabranim standardima kvercetina, apigenina, krizolaminarina, naringenina i kavene kiseline (Kosalec, 2003). Cijeli postupak kromatografije ponovili smo tri puta kako bismo mogli usporediti dobivene rezultate.

Ukupni fenoli izraženi kao ekvivalent kavene kiseline

Ukupni fenoli određeni su metodom po Folin-Ciocalteu. Metoda je spektrofotometrijska i temelji se na oksidaciji fenolnih skupina dodatkom Folin-Ciocalteu reagensa i nastajanju obojenog produkta. Fenolne skupine daju plavo obojenje. Folin-Ciocalteu reagens žute je boje, dok se u prisutnosti fenola boja mijenja u plavu. Intenzitet boje mjeri se određivanjem apsorbancije kod 765 nm u odnosu na slijepu probu (70 %-tni etanol). U ovom istraživanju fenoli u propolisu izraženi su u usporedbi sa standardom kavene kiseline. Za dobivanje je korištena standardna otopina kavene kiseline u razrjeđenjima od 2,00000; 1,00000; 0,50000; 0,25000; 0,12300; 0,06200; 0,03125 mg/ml u 70 %-tnom etanolu. U 1 ml uzoraka otopina propolisa i slijepe probe dodaje se 3 ml Folin-Ciocalteuova reagensa i 3 kapi natrijeva hidroksida. Promiješana otopina ostavlja se da stoji 1 sat na sobnoj temperaturi (KTF, 2016.). U prisustvu fenola otopina se oboji plavo. Nakon obrade u spektrofotometru, prema podacima koncentracije i dobivenim apsorbancijama, izrađuje se standardna krivulja (KTF, 2016). Iz dobivenog grafikona očitaju se koncentracije ukupnih fenola (prema kavenoj kiselini) za ispitivane uzorke propolisa.

Obrada dobivenih podataka

Nakon prikupljanja svih rezultata podatci će se obraditi uz pomoć Excel programa. Koristit će se metode deskriptivne statistike, neparametrijski testovi F-test (za analizu varijanci) i t-test (za analizu uzoraka) te Pearsonov koeficijent korelacije (r) za utvrđivanje odnosa antimikrobnog djelovanja propolisa, količine suhe tvari te odnosa aktivnih tvari u pojedinim uzorcima propolisa.

REZULTATI

Određivanje ukupne suhe tvari u alkoholnim otopinama propolisa

Rezultati određivanja suhe tvari u svim uzorcima propolisa pokazuju odstupanje od minimalne količine od svega 0,05 ($\pm 0,01$) grama kod uzorka 1 do 0,29 ($\pm 0,02$) grama kod uzorka 8 (tablica 1). Uzorak 5 jedini nije etanolna otopina propolisa jer se radi o uzorku propolisa koji je namijenjen djeci pa sadržava glikolni alkohol. Njegove rezultate zanemarujemo i ne možemo ih usporediti jer kod ovog uzorka, u uvjetima sušenja na 110 °C koji su korišteni, nije došlo do konstantne mase, tj. potpunog uparavanja otapala. Prema udjelu suhe tvari posebno se ističu uzorci 3, 4, 7 i 8 (tablica 1).

Tablica 1 Srednje vrijednosti količine suhe tvari u svim uzorcima nakon tri serije

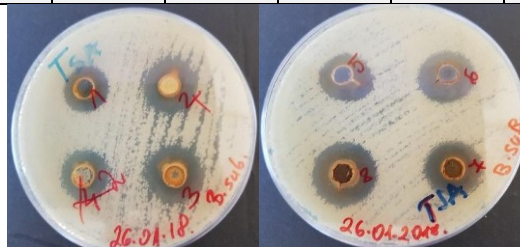
UZORAK	$\bar{X} \pm SD$ (g)	Postotak suhe tvari (%)	UZORAK	$\bar{X} \pm SD$ (g)	Postotak suhe tvari (%)
1	0,05 ($\pm 0,01$)	5	5	0,00	0
2	0,11 ($\pm 0,03$)	11	6	0,05 ($\pm 0,01$)	5
3	0,14 ($\pm 0,02$)	14	7	0,13 ($\pm 0,03$)	13
4	0,15 ($\pm 0,02$)	15	8	0,29 ($\pm 0,02$)	29

Ispitivanje antimikrobnog učinka pripravka od propolisa (mikrobioški test metodom difuzije)

Rezultate antimikrobnog učinka uzoraka propolisa dobili smo mjerenjem zona inhibicije. Svaki od osam uzorka propolisa ispitivan je na gram-pozitivnoj bakteriji *Bacillus subtilis* i gljivici *Saccharomyces cerevisiae*. Rezultati antimikrobnog učinka uzoraka propolisa na *Bacillus subtilis* (tablica 2) pokazuju da je najveća zona inhibicije kod uzorka 3, i to u svim trima serijama ($X = 20,3 \pm 1,53$ mm), a prosječno najmanja kod uzorka 5 ($X = 17,0 \pm 1,00$ mm) (slika 2). Usporedba rezultata zona inhibicije t-testom nije pokazala statistički značajne razlike između ispitivanih uzoraka.

Tablica 2 Zone inhibicije rasta gram-pozitivne bakterije *Bacillus subtilis* u trima serijama na svim uzorcima i slijepoj probi

Serijs/uzorci	1	2	3	4	5	6	7	8	Slijepa proba
Zone inhibicije prve serije (mm)	17,0	19,0	20,0	19,0	16,0	18,0	20,0	19,0	0,0
Zone inhibicije druge serije (mm)	18,0	17,0	22,0	21,0	17,0	18,0	17,0	22,0	0,0
Zone inhibicije treće serije (mm)	18,0	19,0	19,0	18,0	18,0	17,0	17,0	17,0	0,0
$\bar{X} \pm SD$ (mm)	17,7 $\pm$ 0,58	18,3 $\pm$ 1,15	20,3 $\pm$ 1,53	19,3 $\pm$ 1,53	17,0 $\pm$ 1,00	17,7 $\pm$ 0,58	18,0 $\pm$ 1,73	19,3 $\pm$ 2,52	0,0

Slika 2 Zone inhibicije svih osam uzoraka otopina propolisa na bakteriju *Bacillus subtilis*

Rezultati antimikrobnog učinka uzoraka propolisa na gljivicu *Saccharomyces cerevisiae* (tablica 3.) pokazuju da je najveća zona inhibicije i ovdje kod uzorka 3 iako ne u svim trima serijama ($X = 15,3 \pm 1,53$ mm), a prosječno je najmanja također kod uzorka 5 ($X = 11,3 \pm 1,15$ mm) (slika 3). Usporedba rezultata zona inhibicije t-testom nije pokazala statistički značajne razlike između ispitivanih uzoraka.

Tablica 3 Zona inhibicije rasta gljivice *Saccharomyces cerevisiae* u trima serijama na svim uzorcima i slijepoj probi

Serijs/uzorci	1	2	3	4	5	6	7	8	Slijepa proba
Zone inhibicije prve serije (mm)	16,0	16,0	17,0	15,0	10,0	14,0	13,0	12,0	0,0
Zone inhibicije druge serije (mm)	11,0	12,0	14,0	15,0	12,0	14,0	13,0	13,0	0,0
Zone inhibicije treće serije (mm)	11,0	11,0	15,0	14,0	12,0	15,0	14,0	14,0	0,0
$\bar{X} \pm SD$ (mm)	12,7 $\pm$ 2,89	13,0 $\pm$ 2,65	15,3 $\pm$ 1,53	14,7 $\pm$ 0,58	11,3 $\pm$ 1,15	14,3 $\pm$ 0,58	13,3 $\pm$ 0,58	13,0 $\pm$ 1,00	0,0



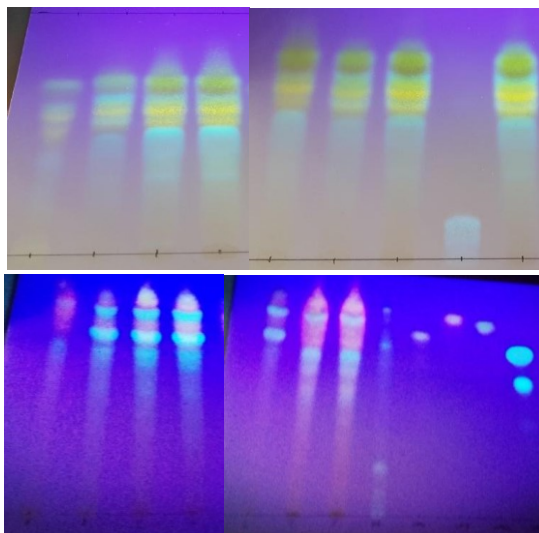
Slika 3 Zone inhibicije svih osam uzoraka otopina propolisa na gljivice *Saccharomyces cerevisiae* te četiri primjera slijepe probe

Metoda tankoslojne kromatografije

Kvalitativna analiza kromatografskih rezultata uzoraka propolisa u usporedbi s korištenim standardima (tablica 4) pokazala je da uzorci 4 i 8 sadrže u najvećoj mjeri sve ispitivane standarde, uzorci 3 i 7 pokazuju nešto manji intenzitet obojenja kod naringinina. Uzorci 1 i 5 pokazuju najslabije intenzitete boje za većinu ispitivanih standarda. Tankoslojna kromatografija provedena je tri puta, a za analizu smo koristili seriju ploča na kojima su se najjasnije vidjeli slojevi odvojenih sastojaka. Analizu je bilo potrebno provesti izravno na pločama pod lampom jer fotografije nisu najbolje prikazivale rezultate zbog slabog osvjjetljenja (slika 4).

Tablica 4. Procjene intenziteta fluorescencije sastojaka uzoraka otopina propolisa prema korištenim standardima

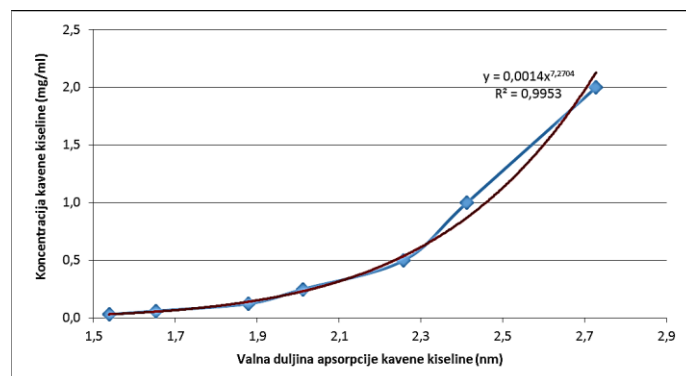
Uzorci propolisa	Kvercetin	Apigenin	Krizolaminarin	Naringenin	Kavena kiselina
Uzorak 1	1	1	1	1	0
Uzorak 2	2	2	2	2	2
Uzorak 3	3	3	3	2	3
Uzorak 4	3	3	3	3	3
Uzorak 5	1	1	0	1	0
Uzorak 6	2	1	1	3	2
Uzorak 7	3	3	3	2	3
Uzorak 8	3	3	3	3	3
Najintenzivniji	●●●	3			
Manje intenzivan	●●	2			
Jedva vidljiv	●	1			
Nije uočen	○	0			



Slika 4 Izgled ispitivanih uzoraka otopina propolisa kod tankoslojne kromatografije

Ukupni fenoli izraženi kao ekvivalent kavene kiseline

Ukupni fenoli određeni su metodom po Folin-Ciocalteu. Nakon izrade baždarne krivulje (slika 5) određena je funkcija koja najbolje opisuje dobivenu krivulju ($y = 0,0014 x^{7,2704}$ $R^2 = 0,9953$). Pritom je X valna duljina u nm, a Y koncentracija kavene kiseline u mg/ml. Vrijednost R^2 pokazuje nam da dobivena krivulja s 99 %-tnom sigurnošću dobro opisuje odnos dviju veličina (X i Y) te da uz pomoć nje možemo iz grafikona odrediti koncentracije kavene kiseline kao pokazatelj (ekvivalent) za fenole (tablica 5).



Slika 5 Baždarna krivulja kao rezultat spektrofotometrije (odnos valne duljine apsorpcije i razrjeđenja standarda za kavenu kiselinu)

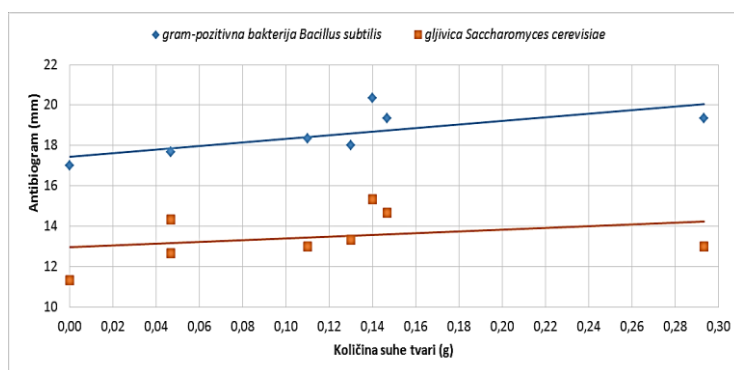
Tablica 5 Rezultati apsorpcije uzoraka otopina propolisa i procjena ukupne količina fenola kao ekvivalent kavene kiseline prema baždarnoj krivulji

	UZORCI OTOPINA PROPOLISA							
Mjerenje apsorpcije	1	2	3	4	5	6	7	8
$\bar{X} \pm SD$ (nm)	1,698 $\pm$ 0,38	1,970 $\pm$ 0,43	2,333 $\pm$ 0,15	2,418 $\pm$ 0,52	1,567 $\pm$ 0,32	1,924 $\pm$ 0,31	2,292 $\pm$ 0,53	2,331 $\pm$ 0,48
PREMA BAŽDARNOJ KRIVULJI I FORMULI ($y = 0,0014 \times 7,2704$ $R^2 = 0,9953$)								
Očitana ukupna količina fenola (mg/ml)	0,065633	0,193649	0,66224	0,858514	0,036674	0,163084	0,581777	0,657713

Povezanosti (korelacije) između dobivenih rezultata

Korelacija je statistički postupak za izračunavanje povezanosti dviju varijabli. Vrijednost korelacije brojčano se iskazuje koeficijentom korelacije.

Korelacija suhe tvari i antimikrobnog djelovanja ispitivanih uzoraka pokazala je umjerenu do dobru povezanost između količine suhe tvari i antimikrobnog djelovanja na gram-pozitivnu bakteriju *Bacillus subtilis* ($r = 0,717158$), dok je slaba povezanost između količine suhe tvari i antimikrobnog djelovanja na gljivicu *Saccharomyces cerevisiae* ($r = 0,303935$). Razlika u korelaciji vidljiva je i iz nagiba pravca na grafičkom prikazu dobivenih rezultata (slika 6).

Slika 6 Grafički prikaz rezultata korelacije količine suhe tvari i antimikrobnog djelovanja uzoraka otopine propolisa na *Bacillus subtilis* i *Saccharomyces cerevisiae*



Usporedba dobivenih rezultata o prisutnosti ili količinama aktivnih tvari u ispitivanim uzorcima otopina propolisa i njihova antimikrobnog djelovanja pokazuje da postoji vrlo jaka korelacija među ovim varijablama. U slučaju antimikrobnog djelovanja ispitivanih otopina propolisa na gram-pozitivnu bakteriju *Bacillus subtilis* zabilježene su jake korelacije u svim slučajevima osim kod naringinina gdje možemo govoriti o slaboj korelaciji (koeficijent korelacije = 0,493986) (tablica 6.). U slučaju antimikrobnog djelovanja ispitivanih otopina propolisa na gljivicu *Saccharomyces cerevisiae* utvrđene su jake korelacije u svim slučajevima ispitivanih aktivnih tvari kao i ukupnih fenola (tablica 6.).

Tablica 6 Prikaz rezultata korelacija između aktivnih sastojaka, antimikrobnog djelovanja na *Bacillus subtilis* i *Saccharomyces cerevisiae* i ukupnih fenola u ispitivanim otopinama propolisa

	Kvercetin	Apigenin	Krizolaminarin	Naringenin	Kavena kiselina	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	0,785187	0,804935	0,824193	0,493986	0,752382	1,000000	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,950733	0,846234	0,889910	0,828461	0,962350	0,862242	1,000000
Ukupna količina fenola	0,930622	0,939873	0,915515	0,626546	0,868880	0,817978	0,883129

RASPRAVA

Kod izbora uzoraka otopina propolisa na tržištu već u analizi podataka koji se mogu naći na njihovu pakiranju mogla se uočiti velika raznolikost podataka koje smo mogli pronaći. Dok kod najvećeg dijela proizvoda nema nikakvih oznaka, osim da se radi o etanolnim otopinama, kod nekoliko proizvoda postojao je podatak o postotku propolisa u njima, u nekima samo udio suhe tvari, a rijetki proizvodi sadržavali su i podatak o udjelu barem neke od aktivnih tvari. Sve navedeno govori o velikoj neusklađenosti na tržištu. Od osam izabranih uzoraka četiri uzorka nemaju nikakav podatak osim da su etanolne otopine, jedan uzorak ima podatak o udjelu propolisa i suhe tvari, a tri uzorka imaju barem neki podatak o udjelu aktivnih tvari. Navedeni odnos broja uzoraka ne odražava stvarno stanje na tržištu na kojem većina proizvoda još uvijek nema podatke ili su to samo podatci o udjelu propolisa ili udjelu suhe tvari.

Analiza suhe tvari u osam ispitivanih uzoraka otopine propolisa pokazala je značajne varijacije od svega 0,05 do čak 0,29 grama. Zanimljivo je uočiti velike razlike između prva tri uzorka dobivena od lokalnih proizvođača (pčelara) na kojima nema nikakvih podataka o njihovom sastavu. Udio suhe tvari u njima kreće se od samo 5 pa do 14 %. Iako su uzorci 7 i 8 deklarirani kao 10 %-tne otopine propolisa, i ovdje su uočene razlike u količini suhe tvari od čak 0,16 grama. Ovakve razlike u skladu su s istraživanjem autora koji ističu neusklađenost sastava otopina propolisa (Kosalec i sur, 2005.; Ernješ 2017.). Pritom treba uzeti u obzir da je uzorak 5 prema rezultatima količine suhe tvari neusporediv jer jedini nije etanolna otopina pa primijenjenom metodologijom nije uspješno uparen te su ti rezultati zanemareni u ovom dijelu rada. Usporedba antimikrobnog djelovanja pokazuje da su uzorci otopina propolisa učinkovitije djelovali na gram-pozitivnu bakteriju *Bacillus subtilis*, a nešto slabije na gljivicu *Saccharomyces cerevisiae*. Iako su uočene razlike između zona inhibicije pojedinih ispitivanih uzoraka, rezultati t-testa ipak su pokazali da te razlike ne možemo smatrati statistički značajnim. U tumačenju tih rezultata treba uzeti u obzir mali broj ponavljanja, što je ograničenje kod statističke obrade. Ovi rezultati u skladu su s očekivanjima prema rezultatima koje su dobili Kosalec i suradnici (2005) i u kojima je također uočena razlika u antimikrobnom djelovanju između gram-pozitivnih bakterija i gljivica. I u tim rezultatima pokazalo se da su ispitivane otopine bile učinkovitije u djelovanju na gram-



pozitivne bakterije (Tlak Gajger i sur., 2017). Zbog uočenog slabog djelovanja na gram-negativne bakterije u našem ih istraživanju nismo analizirali. Usporedba rezultata pokazala je da postoji umjerena korelacija između količine suhe tvari (nezavisna varijabla) i antimikrobnog djelovanja otopina propolisa na gram-pozitivnu bakteriju *Bacillus subtilis* (zavisna varijabla), no usporedbom pojedinih uzoraka, posebice na grafičkom prikazu rezultata, mogu se uočiti neusklađenosti i razlike između pojedinih ispitivanih uzoraka. Iznad crte trenda posebno se ističu uzorci 3 i 4 čija je prosječna masa suhe tvari 0,14 i 0,15 grama dok antimikrobni učinak pada ispod crte trenda kod uzorka 8 iako je masa suhe tvari kod tog uzorka gotovo duplo veća (0.29 grama). Ovi se rezultati mogu povezati s činjenicom da u suhoj tvari može biti i drugih sastojaka koji ne pridonose antimikrobnom učinku otopine propolisa kao što navode Kosalec i suradnici (2004). Kod usporedbe količine suhe tvari i antimikrobnog djelovanja otopina propolisa na gljivicu *Saccharomyces cerevisiae* utvrđena je slaba korelacija. Veća odstupanja posebno su vidljiva kod uzoraka 7 i 8. Posebno se ističe rezultat kod uzorka 8 u kojem je zabilježen najveći udio suhe tvari, a kod zone inhibicije to ne odgovara očekivanim rezultatima. Ovi rezultati ukazuju na činjenicu da veća količina suhe tvari nije uvijek sasvim jasno i linearno povezana s antimikrobnim djelovanjem otopine propolisa, što ukazuje na važnost deklariranja nekog jasnijeg podatka na proizvodu želimo li znati kakvo će biti njegovo antimikrobno djelovanje. Upravo zbog toga većina radova bavi se utvrđivanjem jasno definiranih aktivnih tvari, a ne suhih tvari u uzorcima propolisa (Kosalec i sur., 2005; Grenho i sur., 2015; Machado i sur., 2016). Rezultati suhe tvari ispitivani su u radu Ernješ (2017) i također su pokazali da su količine suhe tvari u alkoholnim tinkturama propolisa različite te da ne postoji uvijek proporcionalnost s koncentracijom ukupnih polifenola i flavonola te da stoga udio suhe tvari u alkoholnim tinkturama propolisa ne može biti pokazatelj za udio aktivnih komponenti u propolisu, a time ni za njegovo antimikrobno djelovanje (Kosalec i sur., 2015; Machado i sur., 2015).

Na kromatogramima pojedinih uzoraka propolisa uspoređivanjem s linijama standarda može se procijeniti koji ih uzorci sadrže ili koji ih sadrže više ili manje prema intenzitetu boje. Na taj način možemo odrediti kvantitativni sastav uzorka propolisa, a intenzitet boje i debljina pojedine linije mogu ukazati i na postojanje razlika u količinama pojedinih sastojaka u uzorcima. Uzorci 4 i 8 pokazali su najintenzivnije pruge za sve ispitivane standarde (kvercetin, apigenin, krizolaminarin, naringenin, kavena kiselina). U uzorcima 3 i 7 nešto su slabije vidljive pruge koje ukazuju na manju količinu naringenina. Unatoč tomu upravo je uzorak 3 pokazao najbolje antimikrobno djelovanje na oba ispitivana mikroorganizma. To je vjerojatno i uzrok rezultata smanjene korelacije aktivnog sastojka naringenina na antimikrobno djelovanje. Takav rezultat možemo možda povezati s nekim drugim sinergičnim učincima (Kosalec i sur., 2004; Ernješ, 2017) koji su kod ovog uzorka 3, unatoč manjoj količini naringenina, pokazali najbolje antimikrobno djelovanje. Rezultati dobiveni metodom tankoslojne kromatografije djelomično su subjektivni i ne sasvim precizni u definiranju sadržaja aktivnih tvari u ispitivanim uzorcima otopina propolisa jer se temelje na procjenama pruga na kromatogramu. Zbog toga smo dodatno pokušali točnije odrediti količinu ukupnih fenola uz pomoć metode po Folin-Ciocalteu. U ovom smo slučaju koristili podatke o kavenoj kiselini i na temelju njih pokušali neizravno odrediti količinu ukupnih fenola u uzorcima. Na temelju dobivene krivulje i izabranog matematičkog modela rezultati su pokazali da uzorci 3, 4, 7 i 8 sadrže najveću ukupnu količinu fenola (kao ekvivalent kavenih kiselina). U sva četiri navedena uzorka ovi rezultati odgovaraju i procjenama aktivnih sastojaka na osnovi tankoslojne kromatografije. Količina ovako određenih fenola



pokazala je i vrlo jaku korelaciju s antimikrobnim djelovanjem ovih uzoraka na oba ispitivana mikroorganizma. Na taj način potvrdilo se očekivanje o izravnoj povezanosti antimikrobnog djelovanja otopina propolisa i udjela aktivnih sastojaka u njima. I u radu Kosaleca i suradnika (2005) metoda određivanja ukupnih fenola kao ekvivalenta nekog od aktivnih sastojaka (npr. kvercetina ili naringenina) pokazala se kao učinkovita metoda za utvrđivanje antimikrobnog učinka uzoraka otopina propolisa.

Manja odstupanja u nekim rezultatima mogu se pripisati i mogućim odstupanjima prilikom pipetiranja uzorka, pripremanja uzorka, mjerenja prilikom očitavanja pojedinih rezultata, npr. mjerenja zona inhibicije ili procjene intenziteta boja kod kromatografije. Iako smo takve pogreške pokušali umanjiti paralelnim serijama, korištenjem iste vage, ipak treba uzeti u obzir i ove moguće pogreške. U sljedećoj fazi istraživanja trebalo bi raditi s više serija mjerenja.

S obzirom na velika odstupanja u kvaliteti propolisa lokalnih pčelara, u sljedećem istraživanju pokušali bismo prikupiti recepture pripreme etanolnih otopina propolisa od manjih proizvođača i usporediti koliko način pripremanja otopina ili količina i način otapanja propolisa u etanolu utječu na kvalitetu i učinak dobivene otopine.

ZAKLJUČCI

Istraživanje je pokazalo:

- ☛ Ispitivani uzorci otopina propolisa s tržišta razlikuju se po sadržaju suhe tvari.
- ☛ Izmjerene zone inhibicije pokazuju da su otopine propolisa učinkovitije u djelovanju prema gram-pozitivnoj bakteriji *Bacillus subtilis* u odnosu na djelovanje na gljivicu *Saccharomyces cerevisiae*.
- ☛ Nisu utvrđene statistički značajne razlike u djelovanju pojedinih ispitivanih uzoraka otopina propolisa.
- ☛ Ispitivani uzorci otopina propolisa sadrže različite udjele djelatnih tvari (kvercetin, apigenin, krizolaminarin, naringenin, kavena kiselina), kao i različite ukupne količine fenola.
- ☛ Utvrđena je umjerena do dobra povezanost između količine suhe tvari i antimikrobnog djelovanja na gram-pozitivnu bakteriju *Bacillus subtilis*, a slaba povezanost između količine suhe tvari i antimikrobnog djelovanja na gljivicu *Saccharomyces cerevisiae* u ispitivanim uzorcima, što ukazuje na značajnija odstupanja pa bi za potpuniji zaključak valjalo ponoviti ispitivanje s više serija mjerenja.
- ☛ Postoji jaka korelacija između antimikrobnog djelovanja ispitanih uzoraka otopina propolisa i udjela aktivnih sastojaka u njima. Što je veći udio djelatnih sastojaka u uzorku (nezavisna varijabla), bolje je njegovo antimikrobno djelovanje (zavisna varijabla).
- ☛ Jedino odstupanje u korelacijama antimikrobnog djelovanja i aktivnih sastojaka zabilježeno je kod djelovanja naringenina na bakteriju *Bacillus subtilis*.

Rezultati pokazuju veće korelacije u odnosu aktivnih sastojaka i antimikrobnog djelovanja otopina propolisa od korelacija suhe tvari i antimikrobnog djelovanja otopina propolisa.

U istraživanju su ograničavajući čimbenici što je provedene na malom broju serija i sa nepatogenim sojevima bakterije i gljivice, no rezultati ukazuju da se otopine propolisa dostupne na našem tržištu



razlikuju međusobno po svojem sastavu i antimikrobnom djelovanju. Za potpunije rezultate trebalo bi napraviti više ponavljanja i koristiti kvantitativne metode analize aktivnih sastojaka u otopinama propolisa te različite patogene bakterije i gljivice. Ali i ovi rezultati ukazuju na potrebu dodatnog označavanja aktivnih sastojaka ovih proizvoda na tržištu kako bi bilo jasnije na koji način takvi proizvodi stvarno djeluju na naše zdravlje.

ZAHVALA

Zahvaljujemo se profesoru Ivanu Kosalecu i asistentici Vanji Ljoljić Bilić (Zavoda za mikrobiologiju Farmaceutsko-biokemijskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu) na savjetima, pomoći i podršci u našem istraživanju. Također zahvaljujemo docentici Ivani Šola i Bioinstitutu Čakovec na pomoći u pribavljanju dijela materijala za naše istraživanje.

LITERATURA

- Allegretti Živić V., Novak P. 2013. Analitička kemija II, Ekstrakcija, kromatografija – osnove elektroanalitičke metode – pregled https://www.pmf.unizg.hr/download/repository/5_AK2_ekstr_krom_elektro.pdf, pristupljeno 8. 1. 2018.
- Beluhan S. 2014. Vježbe iz modula Biotehnologija 2, Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 13
- Blažeković B. i Stanić G. 2004. Ispitivanje bioaktivnog sastava kamilice (*Matricaria recutita* L.) metodom tankoslojne kromatografije, Farmaceutski glasnik vol.60 (6) 243-295 (2004), str. 247.
- Burdass D., Grainger J., Hurst J. (ur.) 2016. Appendix 2 Safe micro-organisms Basic Practical Microbiology – A Manual, Microbiology in Schools Advisory Committee, Microbiology Society, London, UK, str. 31-36.
- <http://microbiologyonline.org/teachers/safety-information/risk-assessment>, pristupljeno 6. 12. 2017.
- Erneš M. 2017. Određivanje polifenola i flavonola u propolisu uv-vis spektrofotometrijom, Završni rad, Veleučilište u Požegi Poljoprivredni odjel, Požega, <https://zir.nsk.hr/islandora/object/vup%3A816>, pristupljeno 18. 1. 2018.
- Grenho L., Barros J., Ferreira C., Santos V.R., Monteiro F.J., Ferraz M.P., Cortes M.E. 2015. In vitro antimicrobial activity and biocompatibility of propolis containing nanohydroxyapatite. Biomedical Materials, 10 (2):1-8 doi: 10.1088/1748-6041/10/2/025004, https://www.researchgate.net/profile/Vagner_Santos5/publication/273784976_In_vitro_antimicrobial_activity_and_biocompatibility_of_propolis_containing_nanohydroxyapatite/links/556739b308aefcb861d3854b/In-vitro-antimicrobial-activity-and-biocompatibility-of-propolis-containing-nanohydroxyapatite.pdf, pristupljeno 5.1. 2018.
- Kosalec I., Bakmaz M., Pepelnjak S. 2003. Analysis of propolis from the continental and Adriatic regions of Croatia, Acta pharmaceutica 53, str. 275-285. <http://acta.pharmaceutica.farmaceut.org/Kosalec.pdf>, pristupljeno 5. 12. 2017.
- Kosalec I., Bakmaz M., Pepelnjak S., Vladimir-Knežević S. 2004. Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia, Acta pharmaceutica 54, str. 65-72. <http://acta.pharmaceutica.farmaceut.org/6504.pdf>, pristupljeno 5. 1. 2018.
- Kosalec I., Pepelnjak S., Bakmaz M., Vladimir-Knežević S. 2005. Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products, Acta pharmaceutica 55, str. 423-430.
- <http://acta.pharmaceutica.farmaceut.org/42305.pdf>, pristupljeno 5. 12. 2017.
- KTF, Kemijsko-tehnološki fakultet, 2016. Osnove znanosti o hrani, Zavod za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju kemijsko-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu, str. 28 do 30., <https://www.ktf.unist.hr/nastavni-materijali-zptbt/nastavni-materijali/category/137-prerada-grozda.html>, pristupljeno 5. 1. 2018.
- Machado C.S., Mokochinski J.B., de Lira T.O., de Oliveira F.D.C.E., Cardoso M.V., Ferreira R.G., Sawaya A.C., Ferreira A.G., Pessoa C., Cuesta-Rubio O., Monteiro M.C., de Campos M.S., Torres Y.R. 2016. Comparative study of chemical composition and biological activity of yellow, green, brown, and red Brazilian propolis. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2016, doi: 10.1155/2016/6057650, <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2016/6057650/>, pristupljeno 5. 1. 2018
- Sobočanec, S. (2006) Učinak propolisa na oksidacijski/antioksidacijski status u cba miša, doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, PMF Biološki odsjek, Zagreb, https://bib.irb.hr/datoteka/286858.PhD_Thesis.pdf, pristupljeno 10. 1. 2018.
- Tlak Gajger I., Pavlović I., Bojić M., Kosalec I., Srećec S., Vlanić T., Vlanić J. 2017. The Components Responsible for the Antimicrobial Activity of Propolis from Continental and Mediterranean Regions in Croatia, Food Microbiology and Safety Czech J. Food Sci., 35, (5): 376–385. <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/228575.pdf>, pristupljeno 5. 1. 2018.

UTJECAJ STRESA NA KRATKOROČNO PAMĆENJE ISPITANIKA SVIJETLE I TAMNE BOJE KOSE

Sara Dolički, 2. razred

II. gimnazija, Zagreb

Mentor: Adriana Ivandić

SAŽETAK

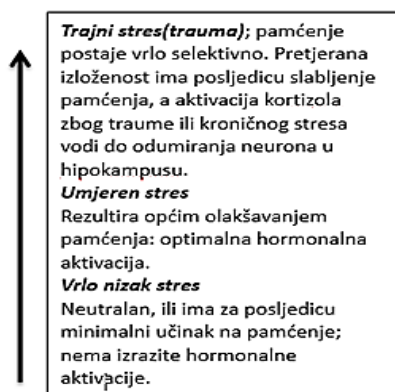
Zbog raširenosti samog pojma „stres“ u svakodnevnome govoru te zbog brojnih šala na račun intelektualnih sposobnosti osoba svjetlije boje kose provedeno je istraživanje kojim se nastojalo utvrditi postoji li određena povezanost između boje kose i kratkoročnog pamćenja pod utjecajem stresa. U istraživanju je sudjelovalo 100 ispitanika – učenici srednje škole, po 25 ispitanika iz svake skupine (podjela prema svijetloj i tamnoj kosi te prema spolu). Istraživanje je provedeno na način da su ispitanici trebali upamtiti 12 parova riječi u razdoblju od 30 sekundi, a onda ih po sjećanju upisati na listić za provjeru. Ispitanici su bili podvrgnuti testiranju u dvije stresne i dvije ne-stresne situacije. Stresne situacije podrazumijevaju da su ispitanici neposredno prije testiranja podvrgnuti različitim stresorima. Prije svakog ispitivanja ispitanici su mjerili puls. Naime, poznato je da se puls povećava pod utjecajem stresa pa je upravo veći puls uzet kao dokaz fiziološke reakcije na stres. Analizom rezultata utvrđeno je da je većina ispitanika imala nešto veći puls nakon izloženosti stresoru i da su pri tome pamtili manji broj riječi. Ispitivanjem je potvrđeno da nema značajnije razlike u kratkoročnom pamćenju kod ispitanika svijetle i tamne kose, ali je potvrđeno da stres negativno utječe na pamćenje.

Ključne riječi: stresor, puls, stresne situacije, ne-stresne situacije

UVOD

Moderno je društvo svakodnevno izloženo stresnim situacijama zbog raznih promjena u neposrednoj okolini i povećanja obujma obveza. Određena razina stresa uvijek je prisutna u životu svakog pojedinca, te ga je nemoguće u potpunosti izbjeći.

Postoji mnogo definicija stresa, ali općenito se može reći da je to obrazac emocionalnih i fizičkih reakcija koje prati subjektivan osjećaj preopterećenosti i koje nastaju kao reakcija na određene događaje (Juničić, 2016). Danas postoje brojne podjele stresa, prema vremenu trajanja, jačini, uzročnicima... Prema Jensenu i Markowitzu (1999) stres dijelimo na vrlo nizak, umjeren i trajni stres, a svaki od njih ima različito djelovanje na pamćenje (Slika 1).



Slika 1 Razine stresa i promjene pamćenja (izvor: Jensen i Markowitz, 1999)

Za kratkotrajni stres tzv. eustress tvrdi se da je zapravo dobar i poticajan za organizam, te da ima minimalan učinak na pamćenje dok dugotrajne i jako stresne situacije tzv. distress negativno djeluju



na tijelo, čine nas podložnijima zdravstvenim tegobama i imaju za posljedicu slabljenje pamćenja. Tijekom stresne situacije dolazi do lučenja hormona adrenalina i kortizola, ubrzanja rada srca, usporavanja probave te do promjena u raznim drugim autonomnim živčanim funkcijama, što za cilj ima u kratkom roku "napuniti" tijelo energijom i snagom za obranu ili bijeg od potencijalne opasnosti. Nakon što potencijalno opasna situacija prođe, sve se funkcije vraćaju u normalu. No kako stres utječe na kratkoročno pamćenje kod osoba različite boje kose?

Vrlo često smo svjedoci šala na račun intelektualnih sposobnosti pojedinaca povezanih sa svjetlom bojom kose. Svakodnevno, u različitim medijima, možemo vidjeti viceve o plavušama, čak je u svakodnevni govor ušao frazem „baš si plava“ za sve nesmotrenosti koje netko napravi. Kratkoročno je pamćenje faza pamćenja koja zadržava podatke u trajanju od po prilici jedne minute nakon nastanka tragova podražaja (Petz, 1992). Glavni je cilj ovog istraživanja proučiti postoji li određena povezanost između boje kose i nošenja sa stresom, odnosno usporediti kratkoročno pamćenje u osoba svjetlije ili tamnije kose nakon što su izložene stresoru, odnosno unutarjem ili vanjskom podražaju, događaju ili situaciji koji izaziva stanje stresa.

Specifični ciljevi ovoga rada su:

1. Istražiti utjecaj različitih stresora na kratkoročno pamćenje ispitanika svijetle i tamne boje kose.
2. Usporediti kratkoročno pamćenje kod ispitanika svijetle i tamne boje kose u ne-stresnim situacijama.
3. Usporediti kratkoročno pamćenje u stresnim i ne-stresnim situacijama mladića i djevojaka.

Pretpostavka je da kvaliteta pamćenja nije uvjetovana bojom kose te da osobe svjetlije i tamnije kose neće pokazati značajnije razlike u kratkoročnom pamćenju, već da će svi ispitanici pokazati slabije kratkoročno pamćenje u stresnim situacijama.

Za provjeru pretpostavke provedeno je ograničeno istraživanje testiranjem nasumično odabranih ispitanika među učenicima srednje škole. Za ispitanike su odabrani učenici srednje škole jer su neprestano izloženi stresu zbog pritiska postizanja što boljih ocjena kako bi upisali željeni fakultet, pritiska kojeg si sami stvaraju, ali i pritiska koji proizlazi iz očekivanja bližnjih.

METODE RADA

U ispitivanju je sudjelovalo nešto više od 100 učenika od prvog do četvrtog razreda srednje škole uz prisutnost mentora. Međutim u analizu su uzeti rezultati samo 100 ispitanika koji su bili prisutni tijekom sva četiri ispitivanja i to rezultati testiranja 50 djevojaka i isto toliko mladića. Svrstani su u četiri skupine po 25 ispitanika temeljene isključivo na prirodnoj boji kose i spolu:

1. skupina – djevojke svijetle kose
2. skupina – mladići svijetle kose
3. skupina – djevojke tamne kose
4. skupina – mladići tamne kose.

Skupine sa svjetlom kosom podrazumijevale su učenike s platinastom, zlatnom, crvenom te svjetlo smeđom kosom. Sve nijanse od srednje smeđe do crne kose svrstane su u kategoriju tamne kose. Učenici s obojanom kosom nisu bili izuzeti iz istraživanja, već su svrstani u kategorije s obzirom na



njihovu prirodnu boju kose. Svi su se ispitanici očitivali da su u dobrom zdravstvenom stanju prije samog testiranja. Svaki ispitanik sudjelovao je u ispitivanju u sve četiri situacije – dvije stresne i dvije ne-stresne, s tim da je razmak između ispitivanja bio dva do tri dana.

Svako testiranje, pod stresom i bez, ponovljeno je dva puta radi vjerodostojnije analize. U prvom i trećem testiranju pamćenje se provjeravalo bez izloženosti stresu – tzv. ne-stresna situacija, a u drugom i četvrtom nakon stresne situacije.

Sva su ispitivanja provedena na satu biologije i kemije. Na samom početku sata ispitanici (svi učenici iz istog razrednog odjeljenja) su upoznati s načinom provjere kratkoročnog pamćenja i objašnjeno im je što podrazumijevaju pojmovi svijetla i tamna kosa. Rečeno im je da će pomoću projektoru biti projicirani parovi riječi koje oni trebaju zapamtiti u vremenskom roku od 30 sekundi, te da će nakon toga u vremenskom razdoblju od 90 sekundi trebati nadopuniti pojmove iz para koji nedostaju. Također, naglašeno im je da je listić anonimn i da nigdje ne upisuju svoje ime i prezime, ali da upišu neku lozinku koja je njima lako pamtljiva – to je napravljeno zbog lakše analize listića nakon istraživanja.

Važno je naglasiti da ispitanici nisu bili upoznati sa samim ciljem istraživanja, nego im je rečeno da se istraživanje provodi u svrhu izrade istraživačkog rada.

U testiranju pamćenja korištena su četiri popisa - prilozi 1,2,3 i 4 s 12 nasumice biranih, nepovezanih parova riječi koje su preuzete iz Priručnika za nastavnike psihologije za gimnazije (Kolega, 2002). Za svako testiranje korišten je drugi popis pojmova za pamćenje. Pojmovi su projicirani pomoću računala s projektorom, a svaki ispitanik dobio je listiće s pojmovima za nadopunjavanje - prilozi 5,6,7 i 8.

Prije svakog testiranja učenici su mjerili puls putem radijalne arterije i podatak o broju otkucaja napisali na poledinu listića s pojmovima (listići su podijeljeni tijekom mjerenja pulsa). Svi su listići bili okrenuti tako da se ne vide pojmovi. Poznato je da simpatikus, dio autonomnog živčanog sustava, povećava frekvenciju i snagu kontrakcija miokarda u stresnoj situaciji. Veći puls dokaz je stresne situacije (Bendelja i sur. 2009). Važno je naglasiti da je u ovom istraživanju jedini ispitanici tjelesni znak stresa bio puls. Naravno da, kao i na stres i na puls utječu razni čimbenici (npr. srčane mane, anemija, uzimanje nekih lijekova i dr.), no ti su čimbenici zanemareni u ovom istraživanju jer su se ispitanici tijekom ispitivanja očitivali da su u dobrom zdravstvenom stanju.

U prvom ciklusu testiranja ispitanici su ispitani u tzv. ne-stresnoj situaciji prema gore navedenom postupku. Isto ispitivanje provedeno je s istom grupom ispitanika u razmaku od dva ili tri dana s novim pojmovima. Ovaj su put ispitanici prije samog testiranja bili izloženi stresu na način da im je profesorica nakon ulaska u razred najavila kratku pisanu provjeru znanja. Budući da provjera nije bila unaprijed najavljena, a učenicima je stalo da imaju što bolji uspjeh, pretpostavljeno je da će izazvati stres kod ispitanika. Kako bi se što bolje simulirala stvarnost provjere znanja ispitanicima je podijeljen test – no u biti je to bio listić s pojmovima za nadopunjavanje. Budući da je „test“ bio okrenut da se ne vidi što je na njemu pretpostavljeno je da će imati isti učinak kao i pravi test. Treći ciklus ispitivanja napravljen je nakon tjedan dana u ne-stresnoj situaciji. U četvrtom ciklusu ispitivanja u tzv. stresnoj situaciji na početku sata u razred je ušla školska pedagoginja. Ona je učenicima najavila otkazivanje školske



ekskurzije zbog „neprimjerenog“ ponašanja učenika na nastavi – time je izazvana stresna situacija s obzirom da je učenicima iznimno važno da putuju na školsku ekskurziju.

Nakon provedenog testiranja listići su sortirani po boji kose i spolu ispitanika. Analiziran je postotak točnih pojmova na svim listićima te napravljena usporedba postignutih rezultata u stresnoj i ne-stresnoj situaciji. Tijekom analize uzeto je u obzir da su ispitanici u drugom testiranju već naučeni na princip učenja riječi. Deskriptivna statistika bavi se uređivanjem prikupljenih, empirijskih podataka, njihovim grafičkim prikazivanjem i opisivanjem pomoću numeričkih vrijednosti: prosjek, standardna devijacija, korelacijski koeficijent (Čuljak, 2011). Za obradu podataka korištena je deskriptivna statistika i t-test kao statistički postupak za testiranje značajnosti razlike između dva uzorka, za testiranje značajnosti razlike u pamćenju kod ispitanika svijetle i tamne kose i kod suprotnih spolova.

REZULTATI

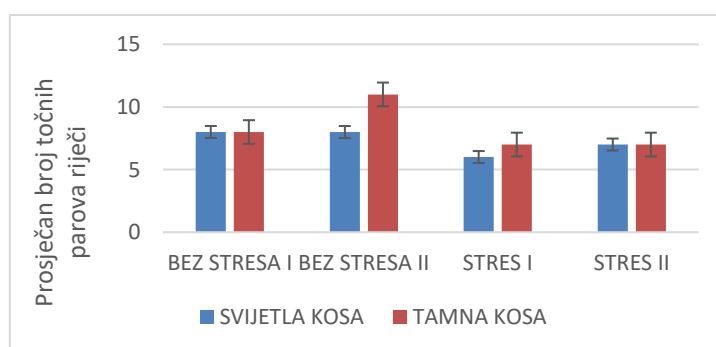
Analizom svih listića izračunat je postotak točnih odgovora po spolu i boji kose te su utvrđene statistički značajne razlike u broju točnih odgovora između učenika i učenica, kao i između učenika svijetle i tamne kose korištenjem t-testa u Microsoft Excelu 2010.

Razlika u kratkoročnom pamćenju pod stresom i bez njega kod svih ispitanika tijekom cijelog ciklusa ispitivanja prikazana je u tablici 1.

Tablica 1 Postotak točnih pojmova prema spolu i boji kose te izloženosti stresnoj ili ne-stresnoj situaciji

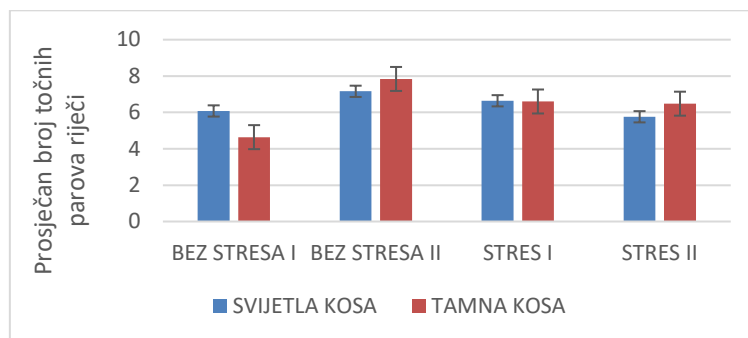
Situacija	BEZ STRESA I	BEZ STRESA II	STRES I	STRES II
Ispitanici	% točnih parova			
Mladići tamne kose	39	65	55	57
Mladići svijetle kose	51	60	55	48
Djevojke tamne kose	65	93	61	56
Djevojke svijetle kose	65	67	50	59

Slika 2 prikazuje usporedbu prosječnog broja točnih parova kod svih ispitanika tijekom cijelog istraživanja kako bi se utvrdile eventualne razlike u kratkoročnom pamćenju.



Slika 2 Usporedba prosječnog broja točnih parova riječi svih ženskih ispitanika („Error bars“ prikazuju odstupanja od dobivenih srednjih vrijednosti kod djevojaka svijetle i tamne boje kose u svim situacijama)

Slika 3 prikazuje usporedbu prosječnog broja točnih parova kod svih muških ispitanika tijekom cijelog istraživanja kako bi se utvrdile eventualne razlike u kratkoročnom pamćenju.



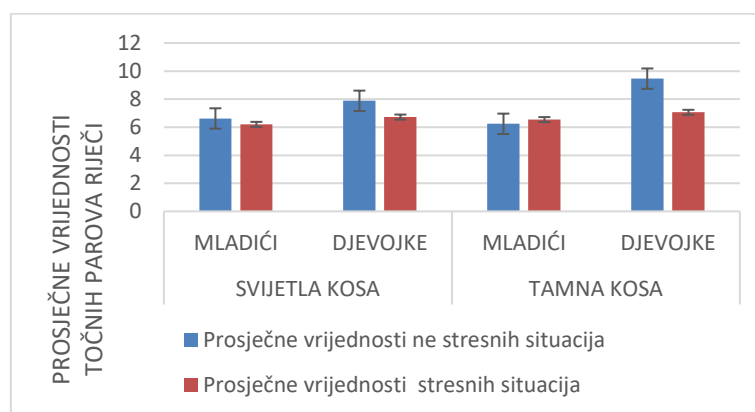
Slika 3 Usporedba prosječnog broja točnih parova riječi svih muških ispitanika („Error bars“ prikazuju odstupanja od dobivenih srednjih vrijednosti kod mladića svijetle i tamne boje kose u svim situacijama)

Razlika u otkucajima srca tijekom jedne minute kod svih ispitanika ovisno o izloženosti stresu tijekom cijelog ciklusa ispitivanja prikazana je u tablici 2.

Tablica 2 Prosječni puls prema spolu i boji kose te izloženosti stresnoj ili ne-stresnoj situaciji

Situacija	BEZ STRESA I	BEZ STRESA II	STRES I	STRES II
Ispitanici	Prosječni puls			
Mladići tamne kose	71	77	77	80
Mladići svijetle kose	72	71	84	84
Djevojke tamne kose	73	75	71	75
Djevojke svijetle kose	68	70	74	76

Slika 4 prikazuje prosječan broj točnih parova riječi kod svih ispitanika u stresnim i ne-stresnim situacijama.



Slika 4 Prosječan broj točnih parova riječi ispitanika svijetle i tamne boje kose u obje stresne i ne-stresne situacije („Error bars“ prikazuju odstupanja od prosječnog broja parova za svaku skupinu u svim situacijama)

RASPRAVA

Odnos između stresa i pamćenja možemo objasniti Yerkes-Dodsonovim zakonom prema kojem s povećanjem intenziteta raste i uspješnost izvedbe, ali do određene granice. Ukoliko nakon toga intenzitet nastavi rasti, naša uspješnost opada. S niskom količinom stresa sposobnost pamćenja postaje bolja, a s povećanjem razine stresa sposobnost dohvaćanja informacija iz dugoročnog i kratkoročnog pamćenja postaje lošija. Hoće li neki događaj biti upamćen ili ne, ovisi o razini stresa koji se događao u vrijeme ili za vrijeme tog događaja (Powell, 2014.)



S obzirom da u Republici Hrvatskoj nije provedeno istraživanje o povezanosti boje kose i kratkoročnog pamćenja u stresnim i ne-stresnim situacijama nije bilo moguće usporediti dobivene rezultate. Slično istraživanje, temeljeno isključivo na razlici u kratkoročnom pamćenju nakon stresom izazvanih situacija provela je Jewell (2005). U tom su istraživanju dobrovoljci zamoljeni da nauče parove riječi i ubrzo ih potom reproduciraju, s tim da su neki među njima prethodno bili u dodiru sa stresnim iskustvom. Istraživanje je pokazalo je da su bolje rezultate postigli ispitanici koji su samo trebali upamtiti riječi od onih koji su bili izloženi stresnoj situaciji. Također je utvrđeno da žene imaju bolje kratkoročno pamćenje od muškaraca čime je dokazano da kortizol drukčije utječe na muškarce i žene.

U ovom istraživanju djevojke su također postigle bolje rezultate od muških ispitanika. Analizom ispitanica uočeno je da nema neke značajnije razlike u kratkoročnom pamćenju bez obzira na boju kose, osim tijekom ispitivanja u ne-stresnoj situaciji II gdje su ispitanice tamnije kose postigle bolje rezultate. Iste rezultate pokazali su i muški ispitanici tamne boje kose koji su bolje kratkoročno pamćenje pokazali u drugoj ne-stresnoj situaciji. Također i broj otkucaja srca je kod ispitanika tamne boje kose povećan u drugom ciklusu istraživanja iako razlika nije toliko značajna da bi pretpostavili da ima utjecaj na kratkoročno pamćenje. Pretpostavka je da su nešto bolji rezultati tamnijih ispitanika rezultat bržeg savladavanja modela učenja riječi s obzirom da su ispitanici već bili upoznati s načinom ispitivanja.

Istraživanjem je potvrđena hipoteza da boja kose nema značajnijeg utjecaja na kratkoročno pamćenje niti kod mladića niti kod djevojaka jer razlike u upamćenom broju parova riječi nisu značajnije.

Broj upamćenih parova riječi u stresnim situacijama kod svih je ispitanika nešto manji, nego u ne-stresnim situacijama. To se podudara s istraživanjem koje je provela Jewell (2005). Međutim, mladići su pokazali da se malo bolje nose sa stresom jer je razlika u upamćenom broju parova riječi u stresnoj situaciji nešto manja – do 10 parova riječi, dok je kod djevojaka razlika veća od 10 parova riječi. Moguće je da su na mladiće istraživani stresori slabije utjecali, te da je upravo ta niska razina stresa pozitivno djelovala na kratkoročno pamćenje.

Razlika u postignutim rezultatima u stresnoj i ne-stresnoj situaciji nije bila velika kao što se očekivalo, tako da je u tom segmentu hipoteza samo djelomično potvrđena. Pretpostavka je da stresna situacija nije bila dovoljno dugog intenziteta da bi izazvala lošije rezultate ili sam stres nije jednako utjecao na sve ispitanike. Izvor stresa u prvom stresnom ispitivanju bio je blic test. Tako izazvan stres ne djeluje na sve jednako s obzirom da pojedinci koji bolje razumiju gradivo neće takvu provjeru doživjeti pretjerano stresnom. Druga stresna situacija bolje je potvrdila hipotezu i dobiveni rezultati su lošiji. U ovom slučaju stresor je bio lažno otkazivanje školske ekskurzije. Očito je da je ovakav stresor bolji jer tu pojedinac ne može utjecati na ishod samog izvora stresa. Potvrda tome je i veći puls u stresnoj situaciji II, nego u stresnoj situaciji I gdje se kao stresor koristila najava blic-testa.

Razlike u stresnim i ne stresnim situacijama su minimalne, što dovodi do zaključka da vrlo nizak stres neutralno utječe na kratkoročno pamćenje, a to se slaže s razinama stresa i promjenama u pamćenju prema Jensenu i Markowitzu (1999).



Puls u ne-stresnoj situaciji II bio je viši i bliže puls u stresnoj situaciji I zbog toga što je ispitivanju u dva razredna odjeljenja prethodio sat tjelesne i zdravstvene kulture. Naime to se saznalo na samom početku ispitivanja jer je došlo do promjene u rasporedu nastavnih sati zbog izostanka nekih profesora, a ponavljanjem ispitivanja značilo bi da bi ti učenici bili ispitani ukupno pet puta.

U ovom istraživanju ispitan je velik broj ispitanika odjednom, odnosno svi učenici iz istog razrednog odjeljenja što je moglo utjecati na rezultate samog ispitivanja jer nisu postignuti optimalni uvjeti za postizanje bolje koncentracije. Kod ponavljanja istraživanja trebalo bi ispitati manji broj učenika odjednom i to učenika koji se međusobno ne poznaju kako bi se spriječila bilo kakva interakcija između njih. Isto tako prije samog ispitivanja trebalo bi detaljnije ispitati fizičko i psihičko stanje svih ispitanika kako bi se isključio utjecaj drugih čimbenika na pamćenje.

U obzir treba uzeti i da su ispitanici tijekom istraživanja razvili način učenja parova riječi, te im je svaki put bilo sve lakše što se slaže s istraživanjem "Percepcija u šahu" (Herrmann, 1990) koje dokazuje da se sposobnost pamćenja razvija. Naime, ispitani su šah majstori i obični amateri te su šah majstori u prvom ispitivanju postizali bolje rezultate zbog već naučenih pokreta i kombinacija, no kada se šah ploča presložila, majstori su postigli rezultate iste kao i amateri. Isto tako u ovom istraživanju ispitanici su se naučili na sistem učenja parova pa su postizali bolje rezultate, što su čak pokazali komentari ispitanika koji su pri prvom ispitivanju imali jako loše rezultate, no u zadnjoj situaciji postizali su 100% točne rezultate jer su razvili metodu učenja parova riječi.

ZAKLJUČCI

Zaključci istraživanja o utjecaju stresa na kratkoročno pamćenje kod ispitanika svijetle i tamne kose su:

- ✱ Osobe svijetle i tamne boje kose ne pokazuju značajnije razlike u kratkoročnom pamćenju nakon izloženosti stresu.
- ✱ Stresori na koje ispitanici ne mogu utjecati svojim intelektualnim sposobnostima jače se odražavaju na kvalitetu kratkoročnog pamćenja.
- ✱ Ispitanici tamnije boje kose pokazuju nešto bolje kratkoročno pamćenje u ne-stresnim situacijama.
- ✱ Ispitanice u ovom istraživanju imaju bolje kratkoročno pamćenje u ne-stresnim situacijama od muških ispitanika.
- ✱ Muški ispitanici se bolje nose sa stresorima korištenim u ovom istraživanju jer im se sposobnost kratkoročnog pamćenja značajnije ne mijenja.

LITERATURA

- Bendelja D., Lukša Ž., Roščak R., Culjak Đ., Operta E. 2009. Djelovanje živčanog sustava, Ćorić, S. (ur.) Djelovanje živčanog sustava i bolesti živčanog sustava, Školska knjiga, Zagreb, str. 73-75.
- Čuljak V., 2011. V. Vjerojatnost i statistika – poglavlje Matematička statistika, <http://www.grad.hr/vera/webnastava/vjerojatnostistatistika/html/VISch11.html>, pristupljeno 18. prosinca 2016.
- Herrmann D. J. 1990. Supermemory, Naklada Slap, Zagreb, str. 17-23.
- Jensen E., Markowitz K. 1999. The great memory book, V.B.Z, Zagreb, str. 15-20, 155-157.
- Jewell J. 2005. Mentalni fitnes na poslu, Profil, Zagreb, str. 70-71.
- Juničić N. 2016. Što je stres? Savjetovalište za studente i uposlenike Tehničkog veleučilišta u Zagrebu <http://savjetovaliste.tvz.hr/psiholoska-pomoc/sto-je-stres/>, pristupljeno 3. prosinca 2016.
- Kolega M. 2002. Priručnik za nastavnike psihologije za gimnazije, Tisak Profil, Zagreb
- Powell M. 2014. Moć pamćenja, Školska knjiga, Zagreb
- Petz B. 1992., Psihologijski rječnik, Prosvjeta, Zagreb, str. 203.

PRILOZI

Prilog 1 Pojmovi odabrani za prvi dio testiranja pamćenja bez izloženosti stresu

nogomet – jezero	slon – papuča	svijeća – radio
auto – pčela	kutija – lopta	škare – prozor
maslačak – sok	knjiga – jabuka	sat – kvaka
ogledalo – zec	tele – mjesec	slika – traktor

Prilog 2 Pojmovi odabrani za drugi dio testiranja pamćenja nakon izlaganja stresnoj situaciji

sapun – dimnjak	kotač – zastava	karta – prsten
olovka – salata	haljina – ravnalo	zubar – more
telefon – buha	ladica – pinceta	oblak – plahta
konj – ogledalo	jedrilica – kolač	zdjela – lokomotiva

Prilog 3 Pojmovi odabrani za treći dio testiranja pamćenja bez izlaganja stresnoj situaciji

Flomaster – uzorak	Pod – mišić	Kalkulator – vesla
Utičnica – rijeka	Krevet – glazba	Zrno – jaje
Koljeno – bicikl	Lopta – suvenir	Pernica – kazaljka
Maramica – vješalica	Krzn – lopata	Vezica – slon

Prilog 4 Pojmovi odabrani za četvrti dio testiranja pamćenja nakon izlaganja stresnoj situaciji

Klavir – bilježnica	Radijator – proljeće	Zid – skica
Drvo – ulica	Grana – vuk	Olovka – garaža
Jakna – cvijet	Čizma – kamen	Boca – nebo
Naočale – gitara	Zastor – antena	Oblak – ura

Prilog 5 Listić za ispitanike

Spol:	Boja kose:
☐ muško	☐ svijetla kosa
☐ žensko	☐ tamna kosa

Sad po sjećanju svakoj riječi dodajte njezin par:

maslačak –	svijeća –	ogledalo –	škare –
slon –	tele –	slika –	auto –
sat –	nogomet –	kutija –	knjiga –

Zahvaljujem na ispunjavanju listića!

Prilog 6 Listić za ispitanike

Spol:	Boja kose:
☐ muško	☐ svijetla kosa
☐ žensko	☐ tamna kosa

Sad po sjećanju svakoj riječi dodajte njezin par:

olovka –	telefon –	konj –	zdjela –
jedrilica –	sapun –	zubar –	haljina –
ladica –	oblak –	kotač –	karta –

Zahvaljujem na ispunjavanju listića!

Prilog 7 Listić za ispitanike

Spol:	Boja kose:
☐ muško	☐ svijetla kosa
☐ žensko	☐ tamna kosa

Sad po sjećanju svakoj riječi dodajte njezin par:

Uzorak –	Mišić –	Krzn –	Vješalica –
Slon –	Bicikl –	Pernica –	Vesla –
Lopta –	Zrno –	Utičnica –	Glazba

Zahvaljujem na rješavanju testa!

Prilog 8 Listić za ispitanike

Spol:	Boja kose:
☐ muško	☐ svijetla kosa
☐ žensko	☐ tamna kosa

Sad po sjećanju svakoj riječi dodajte njezin par:

Nebo –	Vuk –	Čizma –	Ura –
Cvijet –	Skica –	Klavir –	Proljeće –
Antena –	Drvo –	Garaža –	Naočale –

Zahvaljujem na rješavanju testa!

UTJECAJ RAZLIČITIH IZVORA SVJETLOSTI NA RAST I RAZVOJ BILJAKA

Leona Periša, 2. razred

Srednja škola Vrbovec, Vrbovec

Mentor: Sanja Lugarić

SAŽETAK

Istraživanje je provedeno u cilju utvrđivanja najpovoljnije vrste umjetne rasvjete za rast i razvoj biljaka. U tu su svrhu posijane dvije vrste jednosupnica (pšenica i zob) i jedna dvosupnica (grah). Svaka vrsta biljaka rasla je osvijetljena određenom vrstom umjetnog osvjetljenja (električna žarulja, LED, neonska i FLUO lampa) kao i prirodnim svjetlom – kontrolna skupina. Tijekom istraživanja praćeni su rast (visina), duljina internodija, čvrstoća stabljike, površina i masa listova, boja listova povezana s gustoćom kloroplasta kao i duljina, odnosno razvijenost korijena. Uvjeti provođenja pokusa su bili isti za sve ispitivane skupine. Utvrđeno je da je LED-lampa najbolja za rast jednosupnica dok su najslabiji rast i razvoj pokazale pod utjecajem električne žarulje i FLUO-lampe. Graha je najvišu visinu postigao pod utjecajem električne i FLUO-lampe dok su LED i neonska lampa pokazale slične rezultate u odnosu na sunčevo svjetlo. Površina, masa i obojenost listova kod svih vrsta biljaka bile su najveće pod LED i neonskom lampom dok su pod električnom žaruljom i FLUO-lampom rezultati bili najlošiji. Sve su vrste biljaka u odnosu na kontrolnu skupinu imale slabiju čvrstoću, osim graha pod LED-lampom koji je bio iste čvrstoće. Busen korijena graha bio je najrazvijeniji kod biljaka graha pod utjecajem LED- lampe dok je pod FLUO-lampom korijen bio najslabije razvijen, a time i najkraći. Vrste umjetne rasvjete koje su se pokazale kao najbolje za rast i razvoj biljaka su LED i neonska, dok se FLUO-lampa pokazala kao najlošija prema svim mjerenim parametrima.

Ključne riječi: električna lampa, LED-lampa, neonska lampa, FLUO-lampa, pšenica, zob, grah

UVOD

Glavni izvor svjetlosti na Zemlji je Sunce, zvijezda koja svojom toplinom i svjetlošću sudjeluje u svim važnim procesima za živa bića. Svjetlost sudjeluje u prijeko potrebnom procesu za sva živa bića, u procesu fotosinteze. Fotosinteza je osnovni proces metabolizma kod zelenih biljaka, algi i cijanobakterija. Predstavlja skup kemijskih reakcija kojom fotoautotrofi stvaraju hranu, a kod biljaka se to događa u kloroplastima, organelima koji se nalaze uglavnom u listovima i zelenim stabljikama. Sadrže zeleni pigment klorofil koji upija crveni, plavi i ljubičasti dio spektra, a odbija zeleni dio te je upravo zato lišće zeleno. Najveće značenje za biljke ima klorofil a, ali je važan i klorofil b kojem je udio oko 1/3 koncentracije klorofila a. Biljke, alge i cijanobakterije mogu sadržavati i druge pigmente kao što su: klorofil c, karotenoidi, ksantofil i neki drugi pigmenti. Fotosinteza je iznimno važna za život na Zemlji jer izravno ili neizravno osigurava hranu za gotovo sva bića. Izuzetak su kemosintetski organizmi (Springer i Pevalek-Kozina, 1997).

Biljke za proces fotosinteze koriste vodu koju crpe iz tla ili tekuće podloge pomoću korijena i ugljikov dioksid kojeg uzimaju iz zraka. Procesom fotosinteze apsorbiraju sunčevu svjetlost te je pomoću anorganskih molekula ugljikova dioksida i vode pretvaraju u kemijsku energiju koja se pohranjuje u ugljikohidratu glukozi uz oslobađanje kisika. Glukoza polimerizira u škrob koji služi kao rezervna hrana, a pohranjuje se u velikim količinama u obliku škrobnih zrnaca u sjemenkama, plodovima, korijenu, gomoljima i dr. podzemnim organima. Biljka ga koristi u raznim životnim procesima, npr. klijanju, ali i u nepovoljnim uvjetima (Burnie, 1998).

Osim sunčeve svjetlosti, danas je na Zemlji sve više prisutna i umjetna rasvjeta. Ona je korisna prije svega tijekom noći kada nema sunčeve svjetlosti, ali se koristi i za uzgoj biljaka u plastenicima, staklenicima i vertikalnim farmama kako bi se poboljšao urod te kako bi se produžila sezona rasta.



Posebice se koristi u hladnim predjelima s kratkim ljetima ili u periodima kratkih dana za produljenje vegetacije. Neke tvrtke su već razvile svoju verziju umjetne rasvjete kao što je primjerice LED hortikultura kojom se dobivaju ukusniji plodovi (TOPPO, 2018). Primjer takvog uzgoja je projekt uzgoja malina, kupina, krastavaca, ruža i rajčica zimi što omogućuje raniju berbu plodova. Projekt se izvodi u Nizozemskoj, a započinje u studenom. Cilj projekta je kontrolirati sve parametre uzgoja te tako kontrolirati i prehranu biljaka. Stalnim povećanjem broja stanovnika i uz činjenicu da je 80 % obradive površine na Zemlji već iskorišteno umjetna će rasvjeta imati sve važniju ulogu u budućnosti. Osim svojih pozitivnih strana umjetna rasvjeta ima i onu negativnu. Mnogim živim bićima remeti dnevni ritam i utječe na fiziološke procese pa se danas često govori o tzv. svjetlosnom zagađenju.

Vrste i intenzitet svjetlosti

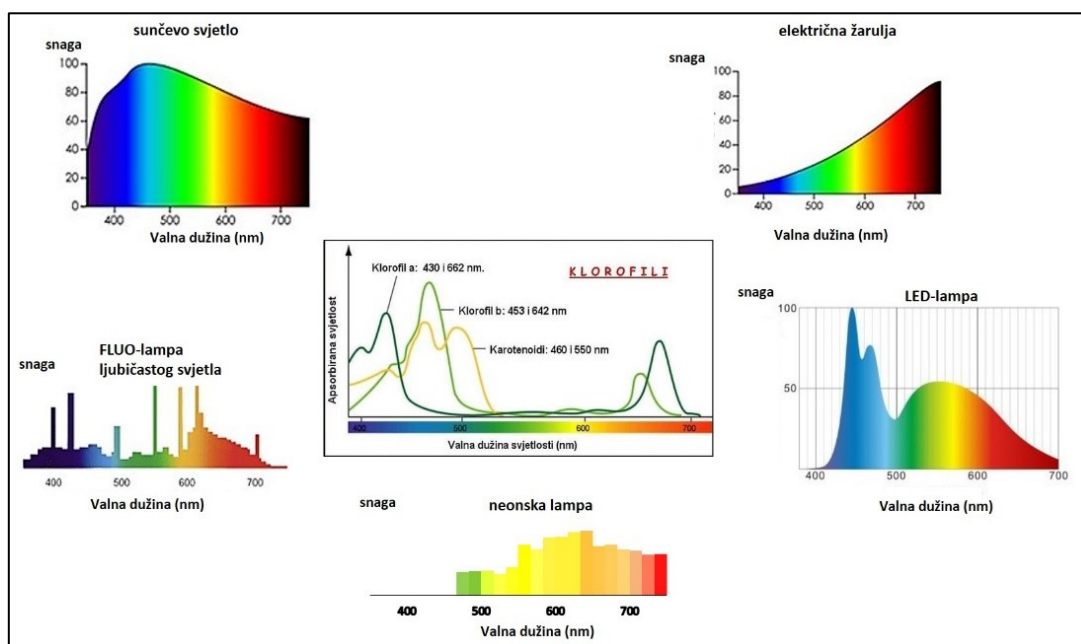
Sunčevo svjetlo koje biljka koristi za fotosintezu u prirodi putuje u obliku elektromagnetskih valova. Predstavlja vidljivi dio spektra od ljubičaste (380 nm) do crvene boje (760 nm). Dio spektra važan za fotosintezu ima valne dužine od 500 do 700 nm, a od 600 do 700 nm apsorpcija sunčevog svjetla u klorofilu je najveća. Biljke apsorbiraju oko jednu desetisucinku svjetlosne energije koja dolazi na Zemlju (Graebner, 2004).

Električna žarulja je uređaj za pretvaranje električne energije u svjetlost i toplinu, a radi na principu zagrijavanja tanke volframove niti. Zbog visoke temperature zrači posebice u infracrvenom području i dijelom vidljivo svjetlo. Oko 90% energije zračenja odlazi na toplinu, a svega 10% je zračenje unutar vidljivog spektra svjetlosti. LED-žarulja (Light-Emitting Diode) ili svjetleća dioda je poluvodički elektronički element koji pretvara električni signal u svjetlost uz oslobađanje topline. Boja emitiranog svjetla ovisi o poluvodiču, kao i o primjesama u njemu i varira od infracrvenog preko vidljivog do ultraljubičastog dijela spektra. Neonska cijev je svjetlosni izvor u obliku cijevi u kojima svjetlost nastaje izravno električnim izbijanjem u plinu (neon ili neki drugi), pod niskim tlakom. Boja svjetlosti ovisi o plemenitom plinu ili smjesi plinova u cijevi. FLUO- cijev je svjetlosni izvor u kojem se vidljiva svjetlost dobiva na fluorescentnom sloju pobuđenim ultraljubičastim zračenjem koje nastaje električnim izbijanjem u smjesi živine pare i plemenitih plinova. U odnosu na običnu žarulju odlikuje je veći stupanj pretvaranja električne energije u svjetlost (oko 66 do 75%), dulji životni vijek, ali su skuplje i zbog sadržaja žive, potencijalno opasne po zdravlje ljudi i okoliš. Kompaktnu izvedbu s ugrađenom elektroničkom predspojnicom i podnožjem nazivamo štedna žarulja (WIKI, 2018).

Intenzitet svjetlosti mjeri se luksimetrom i izražava u luksima (lx). Optimum je u rasponu od 8 000 do 20 000 lx. Intenzitet svjetlosti je važan čimbenik za biljke jer ako je intenzitet svjetlosti koji djeluje na biljku prejak, može doći do solarizacije tj. do razaranja kloroplasta.

Slikom 1 prikazane su valne dužine gore navedenih umjetnih rasvjetnih tijela u usporedbi sa sunčevim svjetlom dok se u sredini slike nalazi dio spektra svjetlosti koji je potreban za proces fotosinteze.

Proučavajući vrste i izvore svjetlosti te njihove karakteristike postavljaju se pitanja: Utječe li sva umjetna rasvjeta pozitivno na rast i razvoj biljaka? Postoje li razlike u veličini organa biljaka koje su rasle pod različitim izvorima svjetlosti u odnosu na kontrolnu skupinu izloženu prirodnom svjetlu? Možemo li koristiti sve tipove rasvjete za dodatno osvjetljavanje biljaka u cilju poboljšanja uzgoja biljaka?



Slika 1 Valna duljina svjetlosti pojedinog rasvjetnog tijela

Cilj istraživanja je bio pokusom utvrditi djelovanje umjetne rasvjete na rast i razvoj biljaka (pšenice, zobi i graha), odnosno koji bi tip umjetne rasvjete (električna žarulja, LED, neonska, FLUO lampa) najbolje zamijenio prirodno sunčevo svjetlo kod uzgoja tih vrsta biljaka. Temeljem proučavanja literature postavljena je hipoteza da će biljke najbolji rast i razvoj imati pod utjecajem LED i neonske lampe zato što te dvije vrste umjetne rasvjete proizvode više svjetlosne energije potrebnog spektra za proces fotosinteze (crveno i plavo područje spektra) a manje toplinske energije. Pod najboljim razvojem biljke smatra se najčvršća i najviša stabljika (ne nužno najviša ako je slabe čvrstoće) te najveća prosječna površina i masa listova, tamnija zelena boja listova - veća gustoća kloroplasta kao i najbolja razvijenost busena korijena.

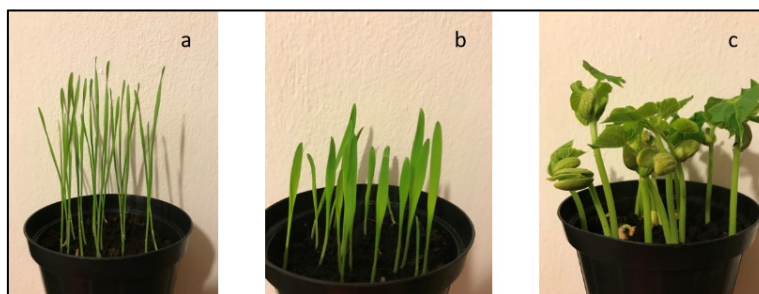
METODE RADA

Prema postavljenom cilju istraživanje je provedeno pokusima kojima su praćene promjene varijabli pri kontroliranim uvjetima. Zavisne varijable su rast i razvoj biljaka (stabljike, listova i korijena), položaj i gustoća kloroplasta u epidermi listova. Nezavisne varijable su različiti izvori svjetlosti (sunčeva svjetlost - kontrolna skupina, električna žarulja, LED, neonska i FLUO lampa) te različite vrste biljaka (pšenica, zob i grah). Kontrolirani uvjeti su ista količina i temperatura vode pri zalijevanju, temperatura, vlažnost i strujanje zraka.

Materijal u istraživanju su bile dvije biljke jednosupnice, pšenica (*Triticum aestivum* L.) i zob (*Avena sativa* L.) te jedna dvosupnica grah (*Phaseolus vulgaris* L.). Sjeme pšenice i zobi nabavljeno je u BC Institutu u Rugvici dok je sjeme graha uzeto iz kućnih zaliha. Pšenica je jednosupnica iz porodice trava (Poaceae). Dnevno je neutralna biljka na čije cvjetanje ne utječe fotoperiod (zametanje cvjetnih pupova ne ovisi o dužini osvjetljenosti). Korijen joj je žiličast kao i kod svih drugih žitarica te se sastoji se od primarnog i sekundarnog korijenovog sustava. Zadaća primarnog korijena je učvršćivanje sjemenke, odnosno mlade biljke u tlo, upijanje vode i minerala dok se ne razvije sekundarni korijenov sustav u obliku čupavog korijenja (adventivno korijenje) a može prodirati i do 2 m u dubinu. Pšenica

se vrlo lako prilagođava klimi i tlu. Optimalna temperatura za klijanje pšenice je oko 14 °C, a isto tako je otporna i na vrlo niske temperature (Gagro, 1997) . Zob kao i pšenicu ubrajamo u biljke žitarice iz porodice trava (Poaceae). Optimalna temperatura za klijanje zobi je oko 20 °C. Također, može izdržati i proljetne mrazeve do -4 °C. Korijenov sustav joj je dobro razvijen i ima veliku sposobnost upijanja mineralnih tvari i vode iz zemlje. Plod je zrno obraslo pljevicama ili bez njih. Grah je biljka dvosupnica koja pripada porodici grahorica (Fabaceae). Jednogodišnja je zeljasta biljka s lišćem okupljenim u grmove te cvjetovima skupljenima u grozdaste cvatove. Grah pogoduje rahlo, dobro gnojeno tlo te topla klima. Plodovi su viseće mahune duljine od 10 do 20 cm, različitih boja i oblika, a obično sadrže 2 do 9 sjemenaka, različite krupnoće. Glavni korijen, koji se razvija iz klicina korijenka, u pravilu je dugovječan i razvija bočno korijenje. Minimalna temperatura klijanja i nicanja je 8 - 10 °C (HE, 2018).

Slikom 2 prikazane su sve tri vrste biljaka u svome razvoju.



Slika 2 Pšenica (a), zob (b) i grah (c) tijekom razvoja

Supstrat korišten za sadnju biljaka kupljen je steriliziran, a namijenjen je za uzgoj povrća. Voda korištena pri zalijevanju svih biljaka bila je iz arteškog bunara koja je zdravstveno ispravna jer se inače koristi pri uzgoju povrća u plastenicima.

Vrste osvjetljenja koje su korištene za provedbu istraživanja bile su: sunčevo svjetlo, električna žarulja, LED-lampa, neonska lampa te FLUO-lampa ljubičastog svjetla. Sve vrste umjetnih rasvjetnih tijela su nabavljene u za to ovlaštenim prodavaonicama. Birane su tako da nemaju prevelike razlike u količini svjetla koje proizvode i snazi koju posjeduju te tako da proizvode veću količinu svjetlosti uz minimalno oslobađanje topline. Pomoću aplikacije *Light Meter* izmjerene su količine svjetlosti koje proizvode određene lampe, intenzitet svjetlosti svih rasvjetnih tijela bio je u rasponu 1600 - 1800 lx, osim za FLUO- lampu ljubičaste svjetlosti koja je bila intenziteta 850 lx. Lampe koje su se nalazile u kutiji bile su na visini od 65 cm od dna posudice dok je električna žarulja bila udaljena 85 cm od dna posudice i u većem prostoru da se izbjegne toplinski učinak na biljke.

Od pribora je korišteno: 30 plastičnih posudica istog materijala - volumena 0,7 L za sadnju biljaka, fotoaparat - mobitel, ravnalo, kartonske kutije, stiropor, žica kojom su se povezale stranice kutije od stiropora, termometri i menzura koja je služila za mjerenje količine vode za zalijevanje, mikroskop i pribor za mikroskopiranje, listovi A4 papira, vaga, olovka za crtanje i škare za rezanje papira.

U razdoblju od 21 dan promatrani su rast i razvoj biljaka pri svakoj vrsti osvjetljenja. Nakon zadnjeg mjerenja utvrđeno je da neke od biljaka više nisu rasle od prethodnog mjerenja te je zbog toga istraživanje prekinuto. Vrijeme osvjetljenosti bilo je približno 9 h na dan zato što je danje svjetlo u ovo

vrijeme godine (siječanj i veljača) otprilike 9 h. Ostatak dana (oko 15 h) biljke su provele u mraku. Uvjeti u svim prostorijama su bili isti te su mjereni svakog dana (temperatura zraka, vlažnost zraka). Sve tri vrste ispitivanih biljaka bile su izložene sljedećim vrstama osvjetljenja:

1. skupina uzoraka bila je izložena sunčevom svjetlu – kontrolna skupina
2. skupina uzoraka bila je izložena električnoj žarulji
3. skupina uzoraka bila je izložena LED-lampi
4. skupina uzoraka bila je izložena neonskoj lampi bijelog svjetla
5. skupina uzoraka bila je izložena FLUO- lampi ljubičastog svjetla.

Pod svakom skupinom uzoraka se podrazumijevalo: 6 plastičnih posudica za sadnju biljaka (2 posudice pšenice + 2 posudice zobi + 2 posudice graha), volumena 0,7 L. U svaku je posudicu posađeno 25 sjemenki određene biljke (neke nisu niknule pa je odlučeno izvaditi određeni broj izniknulih biljaka kako bi ih za istraživanje u svakoj bilo 20). Prije sijanja u svaku posudu bila je stavljeno 0,5 L supstrata, a sjemenke su prekrivene sa 0,05 L supstrata. Svakog trećeg dana prije uključivanja rasvjete (ujutro) biljke su bile zalijevane istom količinom vode, 0,05 L koja je bila sobne temperature. Temperatura prostora u kojoj su biljke klijale i rasle kretala se između 20 – 22 ° C. Skupine uzoraka 3., 4. i 5. nalazile su se u kutiji načinjenoj od stiropora (slika 3), ali su jedna od druge bile odvojene pregradama kako ne bi druga osvjetljenja djelovala na biljke te skupine. Skupina uzoraka izložena električnoj žarulji (2. skupina) nalazila se u drugoj prostoriji u kojoj nije bilo nikakvih drugih osvjetljenja. Žarulja je bila jače snage pa se zato nalazila u većem prostoru kako bi količina svjetlosti koja djeluje na biljke bila približne jakosti svjetlosti koju proizvode lampe u kutiji načinjenoj od stiropora. Električna žarulja oslobađa veliki dio energije u obliku topline što bi moglo nepovoljno utjecati na biljke ostalih skupina pa je to još jedan razlog za odvajanje u zaseban prostor.



Slika 3 Kutija od stiropora (a), rast i razvoj biljaka pod neonskom lampom (b) i LED-lampom (c)

Mjerenja i dokumentiranja vršena su svaki treći dan tj. ukupno osam puta (u to se ubrajaju i početno i završno mjerenje) tijekom tri tjedna. Prosječna visina biljke nakon svakog uzorkovanja (slika 4) izračunata je iz formule za aritmetičku sredinu:

$$V_{\text{PROSJEČNA}} = (V_1 + V_2 + \dots) / n$$

$V_{\text{PROSJEČNA}}$ – prosječna visina stabljike

V_1 – visina jedne stabljike (slika 4)

n = ukupan broj biljaka u posudi (20).



Slika 4 Mjerenje visine biljaka pomoću ravnala

Zbog uočavanja razlika u dužinama internodija kod graha na kraju istraživanja izmjerene su i prosječne dužine svakog od internodija. Dužina svakog internodija izračunata je kao srednja vrijednost dužina svih mjerenih biljaka iz jedne posude.

Tijekom istraživanja praćeni su i vanjski izgled biljaka, čvrstoća stabljike i obojenost listova. Uspoređivani su s kontrolnom skupinom da bi se uočile razlike. Tijekom promatranja primijećena je i znatna razlika u boji listova graha pa je boja svakog lista uspoređena s bojom lista kontrolne skupine. Boja lista ukazuje na količinu klorofila odnosno kloroplasta jer o njima ovisi i intenzitet fotosinteze a time i sam rast i razvoj biljke. Boja lista određena je subjektivnom procjenom prema napravljenoj skali (četiri nijanse zelene boje od najtamnije do najsvjetlije, tablica 1).

Tablica 1 Skala boja pomoću koje se određivala boja lista kod biljaka

NIJANSA BOJE				
--------------	--	--	--	--

Čvrstoća stabljike određivana je također subjektivno po osjetu pri kontaktu s biljkom te je uspoređena s čvrstoćom kontrolne skupine. Označena je oznakama: najčvršća stabljika (+++), nešto slabija čvrstoća (++) i najslabija čvrstoća stabljike (+). Rezultati boje lista i čvrstoće stabljike prikazani su tablično.

Kako položaj i gustoća kloroplasta direktno ovise o intenzitetu osvjetljenja utvrđeni su i ti parametri. Mikroskopirani su listovi svake vrste biljke. Pomoću pincete i skalpela odvojen je dio lista s gornje strane te je stavljen na predmetno stakalce na koje je netom prije stavljeno malo vode. Zatim je na predmetno stakalce stavljeno pokrovno stakalce te se cijeli preparat stavio na stolić mikroskopa te se preparat gledao pod povećanjem od 400 puta. Denffer i Ziegler (1991) u svojoj knjizi navode dva moguća položaja kloroplasta u stanici, kloroplaste koji su jednoliko raspoređeni u cijeloj stanici što ukazuje na bolje iskorištavanje svjetlosti i kloroplaste koji se nalaze uz bočne stijenke jer primaju jaču količinu svjetlosti. Ta dva položaja bilježena su u tablicu kao rezultat dok se procjena gustoće (brojnosti) kloroplasta ocijenila oznakama: najveća gustoća (+++), manja (++) i najmanja (+).

Zadnji dan istraživanja mjerene su površina i masa lista na uzorku od deset listova iz svake skupine. Prosječna površina lista kod jednosupnica pšenice i zobi mjerena je tako što se uzela konačna prosječna visina biljke i pomnožila sa prosječnom širinom lista (mjerena na otprilike 5 cm od vrha) dok se prosječna masa lista mjerila tako što se izvagalo 10 listova prosječne visine, a ukupna masa je podijeljena sa brojem 10 te se tako dobila srednja vrijednost mase lista. Prosječna površina i masa lista graha mjerene su na nešto drugačiji način zbog oblika listova. Uzet je jedan list papira A4 te su

izmjerene njegova dužina i širina. Množenjem tih dvaju podataka dobivena je površina lista papira. Također, papir se i izvagao pa se dobila i njegova masa. Zatim je sa svih biljka otrgnuto deset najvećih listova. Svaki od njih se što vjernije ocrtao na listu A4 papira te izrezao i stavio na vagu (Lisjak i sur., 2009). Slikom 5 prikazano je mjerenja površine lista graha, a sljedećom formulom izračunata je površina lista graha:

$$P_l [\text{cm}^2] = P_p * m_l / m_p$$

P_l – površina lista

P_p – površina papira

m_l – masa lista (izrezanog)

m_p – masa papira



Slika 5 Određivanje površine lista

Masa lista graha je izračunata na isti način kao i kod pšenice i zobi.

Na kraju praćenja rasta i razvoja biljke graha su izvađene iz tla te je uspoređena razvijenost korijenja. Slikom 6 prikazano je mjerenje dužine korijenja. Dužina se mjerila tako da je uzeto deset korijena po skupini te je izmjerena dužina korijena svakog od njih i izračunata srednja vrijednost. Korijenje kod pšenice i zobi nije bilo moguće potpuno odvojiti zbog isprepletenosti pa zato nisu mjereni.



Slika 6 Mjerenje dužine korijenja graha

REZULTATI

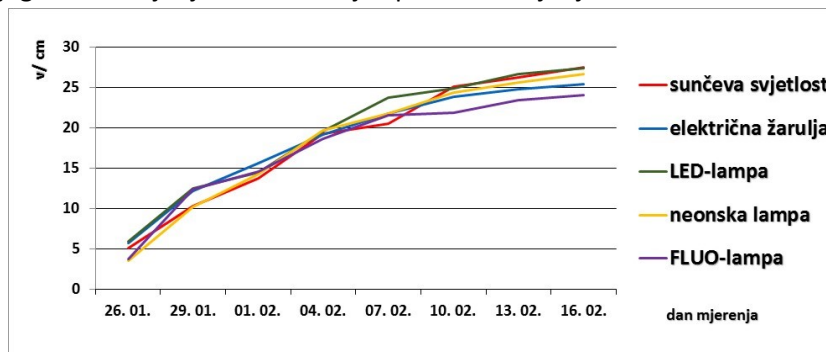
Rezultati istraživanja izneseni su prema redoslijedu u metodologiji. Slikom 7 prikazane sve vrste biljaka u svakoj skupini fotografirane nakon završnog mjerenja. Biljke su poredane po skupinama (redom s lijeva na desno: sunčevo svjetlo, električna žarulja, LED- lampa, neonska lampa i FLUO- lampa).



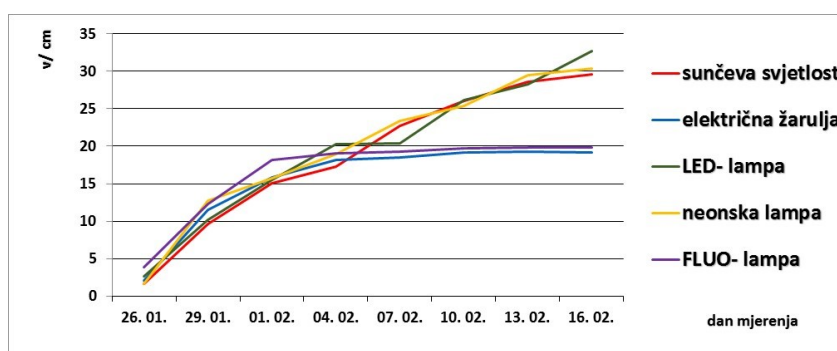
Slika 7 Konačna visina pšenice (a), zobi (b) i graha (c) pri svakoj vrsti osvjetljenja

Sljedeće tri slike prikazuju (slika 8, 9 i 10) prikazuju rast pšenice, zobi i graha mjerene svaka tri dana tijekom tri tjedna. Na slici 8 vidljivo je kako je prosječna visina zobi zadnjeg dana eksperimenta (8.

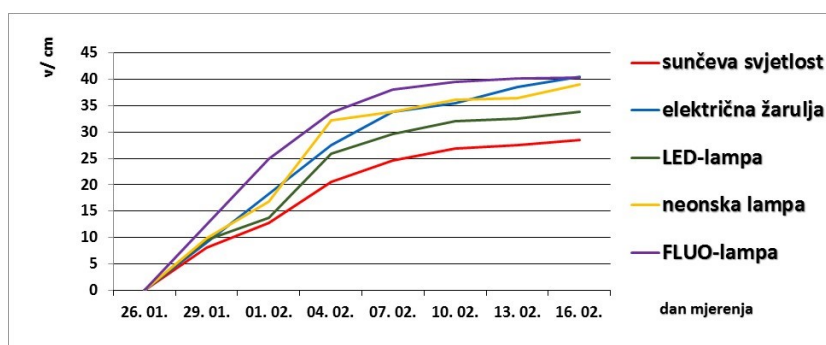
mjerjenje) kod biljaka osvijetljenih električnom žaruljom i FLUO-lampom ljubičastog svjetla bila jednaka prosječnoj visini prethodnog mjerenja (7. mjerenje). Upravo je zbog te činjenice prekinuto izvođenje daljnjeg istraživanja tj. sve su se biljke prestale osvjetljivati.



Slika 8 Prosječna visina stabljike pšenice pri svakoj vrsti osvjetljenja

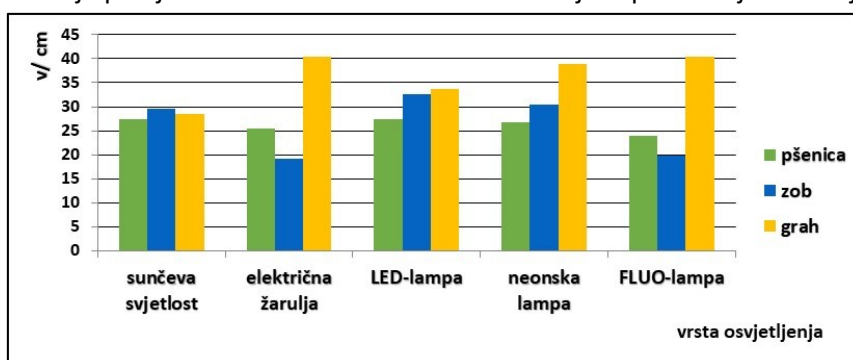


Slika 9 Prosječna visina stabljike zobi pri svakoj vrsti osvjetljenja



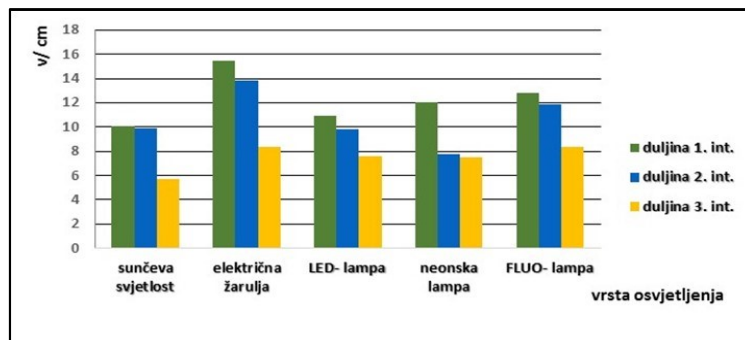
Slika 10 Prosječna visina stabljike graha pri svakoj vrsti osvjetljenja

Slikom 11 prikazana je prosječna konačna visina svake vrste biljaka pri svakoj vrsti osvjetljenja.



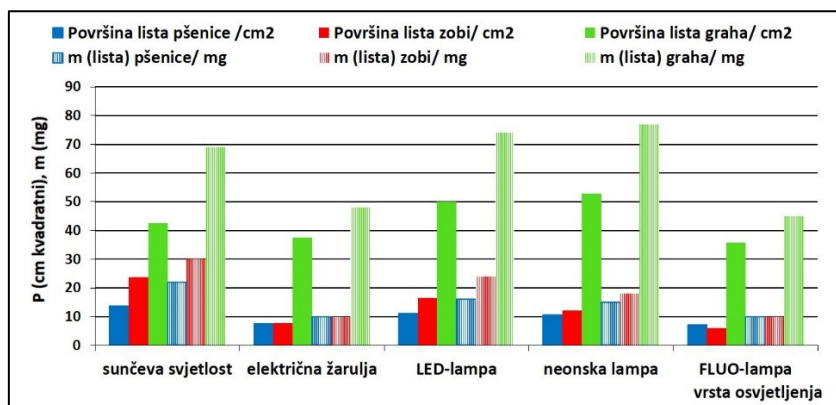
Slika 11 Prosječna konačna visina svake vrste biljke pri svakoj vrsti osvjetljenja

Kod graha je primijećena razlika u broju i dužinama internodija. Kod svih biljaka zamijećena je pojava prvog, drugog, trećeg, a samo kod nekih i četvrtog internodija. Po završetku istraživanja izmjerene su prosječne duljine svakoga od njih (osim četvrtog koji je bio premalen). Rezultati mjerenja prikazani su slikom 12.



Slika 12 Prosječne duljine internodija graha u svakoj skupini uzoraka

Na kraju istraživanja izmjerene su i prosječna površina lista (P) svake vrste biljaka u svakoj skupini te njegova prosječna masa (m). Rezultate mjerenja pokazuje slika 13.



Slika 13 Prosječna površina i masa lista svake vrste biljke u svakoj skupini

Tablicom 2 prikazane su čvrstoća stabljike i boja lista svake vrste biljaka pri svakoj vrsti osvjetljenja. Čvrstoća stabljike kreće se od najčvršće stabljike (+++) preko nešto slabije (++) pa do najslabije stabljike (+).

Tablica 2 Boja lista i čvrstoća stabljike svake vrste biljke pri svakoj vrsti osvjetljenja

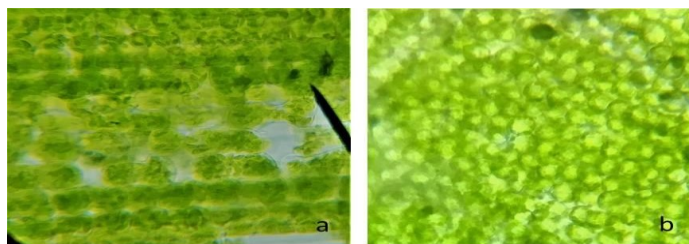
	PŠENICA		ZOB		GRAH	
SUNČEVA SVJETLOST	Boja lista	Čvrstoća stabljike	Boja lista	Čvrstoća stabljike	Boja lista	Čvrstoća stabljike
		+++		+++		+++
ELEKTRIČNA ŽARULJA	Boja lista	Čvrstoća stabljike	Boja lista	Čvrstoća stabljike	Boja lista	Čvrstoća stabljike
		++		+		+
LED- LAMPA	Boja lista	Čvrstoća stabljike	Boja lista	Čvrstoća lista	Boja lista	Čvrstoća stabljike
		++		++		+++
NEONSKA LAMPA	Boja lista	Čvrstoća stabljike	Boja lista	Čvrstoća lista	Boja lista	Čvrstoća stabljike
		++		++		++
FLUO- LAMPA	Boja lista	Čvrstoća stabljike	Boja lista	Čvrstoća stabljike	Boja lista	Čvrstoća stabljike
		+		+		+

Tablicom 3 prikazani su položaj i gustoća kloroplasta u stanici svake vrste biljke pri svakoj vrsti osvjetljenja. Gustoća kloroplasta izražena je procjenom - najveća gustoća kloroplasta (+++), nešto manja gustoća (++) i najmanja gustoća (+).

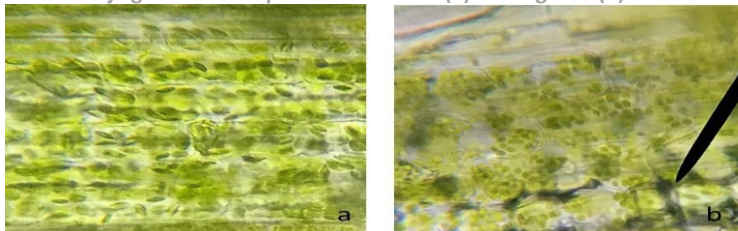
Tablica 3 Položaj i gustoća kloroplasta u stanicama svake vrste biljke pri svakoj vrsti osvjetljenja

	PŠENICA		ZOB		GRAH	
	KLOROPLAST		KLOROPLAST		KLOROPLAST	
SUNČEVA SVJETLOST	POLOŽAJ	GUSTOĆA	POLOŽAJ	GUSTOĆA	POLOŽAJ	GUSTOĆA
	po cijeloj stanici	+++	po cijeloj stanici	+++	uz staničnu stijenu	+++
ELEKTRIČNA ŽARULJA	po cijeloj stanici	+	uz staničnu stijenu	+	po cijeloj stanici	++
LED-LAMPA	po cijeloj stanici	+++	po cijeloj stanici	++	uz staničnu stijenu	+++
NEONSKA LAMPA	po cijeloj stanici	++	po cijeloj stanici	++	po cijeloj stanici	++
FLUO-LAMPA	uz staničnu stijenu	+	uz staničnu stijenu	+	uz staničnu stijenu	++

Slikama 14 i 15 prikazane su primjeri mikroskopskih snimki na kojima se vide gustoća i položaj kloroplasta.

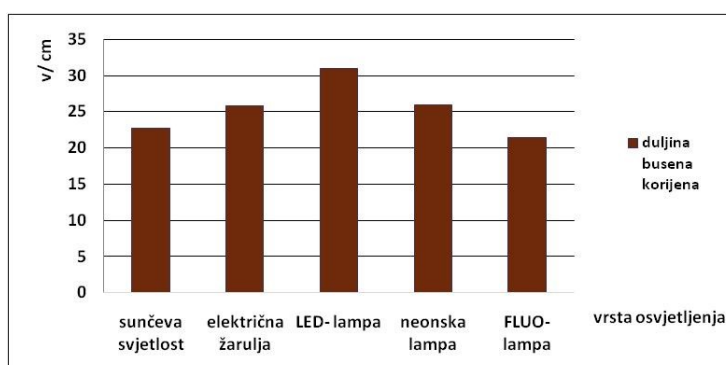


Slika 14 Položaj i gustoća kloroplasta u listu zobi (a) i listu graha (b) kontrolne skupine



Slika 15 Položaj i gustoća kloroplasta u listu pšenice pri LED-lampi (a) i FLUO-lampi (b)

Slikom 16 grafički je prikazana prosječna duljina najdužeg korijena graha pri svakoj vrsti osvjetljenja kao i slikom 17 na kojoj se vidi vanjski izgled svakog najdužeg korijena.



Slika 16 Prosječna duljina korijena graha kod različitih vrsta osvjetljenja



Slika 17 Vanjski izgled najdužeg korijena u svakoj skupini

RASPRAVA

Analizom rezultata mjerenja visine svake vrste biljaka pri svakoj vrsti osvjetljenja utvrđeno je kako različite vrste osvjetljenja različito djeluju na visinu biljaka. Usporedbom rezultata završne visine stabljika svih biljaka (slika 11) utvrđeno je da su pšenica i zob najvišu visinu postigle pod utjecajem LED-lampe dok su pod utjecajem električne žarulje i FLUO-lampe bila najniže. Visina graha je pak najviša bila pod utjecajem FLUO-lampe i električne žarulje (podjednake vrijednosti). FLUO-lampa je imala niži intenzitet osvjetljenja od ostalih (850 lx) pa se nagli rast graha može time objasniti (Slivonja, 2017). Kod električne žarulje sličan rezultat se može objasniti oslobađanjem veće količine energije u obliku topline. Najniža visina graha pod umjetnom rasvjetom izmjerena je pod LED-lampom što približno odgovara kontrolnoj skupini. Svojim radom Barta i sur. (1992) predstavili su tehnologiju LED osvjetljenja za rasvjetu staklenika i dali pregled LED svjetlosnih efekata na rast i prinos rajčice, krastavca i slatke paprike. Zaključili su da LED diode imaju dobar utjecaj na rast i razvoj biljaka što se i u ovom istraživanju pokazalo točnim za jednosupnice (pšenicu i zob) koje su najbolji rast i razvoj imale pod LED-lampom. Kod graha to osvjetljenje nije izazvalo najviši rast, ali se može smatrati najpogodnijim zbog najčvršće stabljike, dobro razvijenih listova kao i gustoće kloroplasta.

Primijećene su i razlike u duljinama internodija kod graha pri različitim osvjetljenjima (slika 12). Duljina 1. internodija bila je najdulja kod graha osvjetljenog električnom žaruljom što se može objasniti manjkom svjetlosti kao i kod visine. Kod graha osvjetljenog LED-lampom izmjerena je najkraća duljina (nakon sunčeve svjetlosti) 1. internodija. Duljina 2. internodija je također bila najdulja kod graha osvjetljenog električnom žaruljom, a najkraća je zabilježena kod graha osvjetljivanog neonskom lampom. Duljina 3. internodija je bila najdulja kod graha osvjetljivanog električnom žaruljom i FLUO-lampom dok je kod LED i neonske lampe duljina bila najmanja i gotovo jednaka. Iz rezultata je tako vidljivo da su najveće duljine internodija graha bile pod električnom žaruljom i FLUO-lampom dok su pod utjecajem LED i neonske lampe duljine bile nešto kraće od duljina pod električnom žaruljom i FLUO-lampom, ali ujedno i veće od duljina internodija graha kontrolne skupine (osim 2. internodija koji je pod neonskom lampom bio neznatno veći). Istraživačkim radom Vješnica i Knezović (2014) su proučavale duljinu internodija graha pod bijelom i ljubičastom FLUO-lampom i zaključile kako su duljine internodija graha pod umjetnom rasvjetom duže od duljina internodija graha kontrolne skupine što potvrđuje i ovo istraživanje.

Kod svih biljaka su izmjerene i površina i masa lista (slika 13), ali je određena i njegova boja. Promatrajući dobivene rezultate uočljivo je kako su poslije kontrolne skupine koja je pokazala najbolje rezultate, najveće površine listova, najveće mase lista i listove najtamnije zelene boje imale sve vrste



biljaka osvijetljivane LED i neonskom lampom. U svom radu Jukić (2017) je analizirala radove istraživača koji su proučavali utjecaj LED rasvjete na biljke. Navodi kako se koncentracija klorofila i površine listova povećavaju utjecajem LED rasvjete što se pokazalo i u ovom istraživanju. Biljke osvijetljene električnom žaruljom i FLUO-lampom imaju manju površinu i masu lista kao i najsvjetlije zelene listove. Ti se rezultati mogu objasniti položajem i gustoćom kloroplasta u epidermi listova (slike 14 i 15) tako što su veća gustoća kao i ravnomjerniji raspored kloroplasta unutar stanice pridonjeli tamnijim listovima (tablica 2). Vješnica i Knezović (2014) u svom istraživačkom radu navode da je boja listova pšenice osvijetljivane bijelom i ljubičastom fluorescentnom lampom bila tamnija od boje listova pšenice promatrane pod sunčevim svjetlom što je u suprotnosti s ovim istraživanjem. Boja listova pšenice je pod svim osvijetljenjima bila svjetlija od boje listova kontrolne skupine što ukazuje na manju količinu klorofila, a time i slabiji intenzitet fotosinteze što je utjecalo i na slabiji razvoj listova. Uočile su i kako je boja listova graha osvijetljenog bijelom lampom bila tamnija od boje listova kontrolne skupine, no boja listova bila je i tamnija pod ljubičastom lampom što je također suprotno rezultatima ovog istraživanja kod kojeg je boja graha pod FLUO-lampom ljubičasta svjetla bila svjetlija od boje listova kontrolne skupine.

Za čvrstoću stabljike pšenice i zobi (tablica 2) može se reći da je kod svih osvijetljenja bila manja od čvrstoće pšenice i zobi pri sunčevom svjetlu dok je kod graha čvrstoća bila nešto veća. Tako je primjerice čvrstoća stabljike graha (tablica 2) izloženog LED–lampi bila ista kao čvrstoća stabljike graha u kontrolnoj skupini. Kod ostalih osvijetljenja rezultati su bili slabiji. Uzevši u obzir sve rezultate mjerenja najčvršće su, nakon biljaka kontrolne skupine, bile biljke izložene LED-lampi dok su biljke izložene FLUO-lampi imale najslabiju stabljiku što se slaže s rezultatima istraživanja Vješnice i Knezović (2014).

Busen korijena graha (slika 16) bio je najrazvijeniji kod graha pod LED i neonskom lampom (nešto bolji kod LED-lampe) dok je pod utjecajem FLUO-lampe korijen bio nešto slabije razvijen, a samim time i najkraći. Najrazvijeniji korijen je bio kod graha osvijetljenog LED-lampom, što je bilo i za očekivati jer su te biljke imale najrazvijeniji nadzemni dio. I ovi rezultati su uspoređeni s istraživačkim radom Vješnice i Knezović (2014), ali se ne poklapaju u potpunosti. U ovom istraživanju busen je kod graha izloženog FLUO rasvjeti bio najkraći i najnerazvijeniji dok je u njihovom bio isto slabo razvijen, ali najduži. S obzirom da je kod FLUO osvijetljenja stabljika graha bila slabe čvrstoće i svjetlog lišća s manje klorofila u odnosu na ostale uzorke, bilo je opravdano pretpostaviti da će i korijen biti slabo razvijen. Kod svih uzoraka graha postoji korelacija između razvijenosti korijena i čvrstoće stabljike i razvijenosti listova. Slabije razvijeniji korijen utječe na slabiji razvoj nadzemnog dijela biljke. Rezultatima ovog istraživanja potvrđena je hipoteza da će biljke najbolji rast i razvoj imati pod LED i neonskom lampom te bi te vrste umjetne rasvjete bile najbolja zamjena za sunčevo svjetlo bez obzira pripadaju li biljke skupini jednosupnica ili dvosupnica.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja mogu se donijeti slijedeći zaključci:

- ✿ Najintenzivniji rast kod jednosupnica uzrokuje LED-svjetlo, a kod graha električna žarulja.
- ✿ Biljke graha pri slabijem osvijetljenju (FLUO i električna žarulja) produžuju internodije što ima za posljedicu slabiju čvrstoću stabljike.
- ✿ LED i neonska lampa najbolje utječu na brojnost kloroplasta i količinu klorofila, a time i na razvoj listova kod svih vrsta biljaka.



- ✿ Najbolji utjecaj na rast i razvoj korijena graha ima LED osvjetljenje.
- ✿ FLUO-lampa ima najslabiji utjecaj na rast i razvoj biljaka prema svim mjerenim parametrima i svakako se ne bi preporučila za uzgoj biljaka kao zamjena za sunčevo svjetlo.
- ✿ LED i neonska rasvjeta su vrste umjetne rasvjete koje mogu zamijeniti prirodnu svjetlost.

LITERATURA

- Barta, D.J., T.W. Tibbitts, R.J. Bula, Morrow. R.C. 1992., Evaluation of light emitting diode characteristics for a space based plant irradiation source. *Advances in Space Research* 12: 141– 149.
- Burnie D. 1998. Ilustrirani leksikon prirode, Mozaik knjiga, Zagreb, str. 26-27.
- Denffer D., Ziegler H., 1991., Botanika- Morfologija i fiziologija, Udžbenik botanike za visoke škole, Školska knjiga, Zagreb
- Gagro M. 1997. Žitarice i zrne mahunarke, Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb, str. 53- 83.
- Graebner K. E. ,2004. Tisuću čuda prirode, Mozaik knjiga, Zagreb, str. 34- 38.
- HE 2018. <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica>, pristupljeno 03.03.2018.
- Jukić M., 2017. Fotosinteza u uvjetima umjetnog osvjetljenja, završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Preddiplomski studij biologije
- Lisjak, M., Špoljarević, M., Agić, D., Andrić, L. 2009. Praktikum iz fiziologije bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, http://asd2007.pfos.hr/~dsego/ispitna_literatura/praktikum_fiziologije_bilja.pdf, pristupljeno 03.03.2018.
- Slivonja M., 2017., Utjecaj različitog tipa umjetnog osvjetljenja na klijavost i energiju klijanja lubenice i dinje, završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Preddiplomski studij biologije
- Springer O. P., Pevalek-Kozlina B. 1997. Fotosinteza, U Springer O. P. (ur.), *Biologija 3: Fiziologija čovjeka i fiziologija bilja*. Profil International, Zagreb, str. 218-224.
- TOPPO 2018. Sistemi za osvjetljenje, Toppo Lighting, <http://ba.toppoledlight.com/news/science-advances-in-matching-led-lighting>, pristupljeno 01.03.2018.
- TPORTAL 2018. Led rasvjetom Philips pomaže razvoju poljoprivrede, <https://www.tportal.hr/tehnolo/clanak/led-rasvjetom-philips-pomaze-razvoju-poljoprivrede>, pristupljeno 01.03.2018.
- Vješnica S., Knezović D., 2014. Utjecaj fluorescentnih lampi na rast pšenice i graha, Istraživački rad za natjecanje iz biologije
- WIKI 2018. Umjetni izvori svjetla, https://hr.wikipedia.org/wiki/Umjetni_izvori_svjetla, pristupljeno 28.02.2018.

MIKROMORFOLOŠKA I MAKROMORFOLOŠKA OBILJEŽJA PRIMORSKOG, PLANINSKOG I KRŠKOG VRISKA

Ana Randić, 2. razred

Nina Randić, 2. razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: Romana Halapir Franković

SAŽETAK

Ovo se istraživanje bavi mikromorfološkim i makromorfološkim obilježjima primorskog, planinskog i krškog vrisaka. Krški vrisak je križanac primorskog i planinskog vrisaka te se pojavljuje na staništima na kojima se preklapaju populacije primorskog i planinskog vrisaka. Cilj ovog istraživanja je proučiti i usporediti mikromorfološka i makromorfološka obilježja navedenih triju svojti. Proučavanjem morfoloških obilježja zaključeno je da je križanac po svojim makromorfološkim obilježjima sličniji primorskom vrisaku, a da je za mikromorfološka obilježja poprimio srednju osobinu roditeljskih biljaka.

Ključne riječi: morfološke karakteristike, usnače, rod *Satureja*, križanac

UVOD

Biljne vrste iz porodice usnača (Lamiaceae), zbog svoje karakteristike da pretežno obitavaju na područjima tople klime, u Hrvatskoj su najrasprostranjenije u primorskom dijelu. Danas je poznato nekoliko tisuća vrsta (u različitim literaturama navodi se od 3200 do 5000) raspoređenih u oko 225 rodova koje su vrlo rasprostranjene u svijetu, najviše na području Sredozemlja (Heywood, 1995). Važnost ovih biljaka za čovjeka je njihovo korištenje kao začinsko bilje, proizvodnja mirisnih i eteričnih ulja od predstavnika koji takva ulja sadrže u većoj količini te upotreba u medicini zbog ljekovitih i antibakterijskih svojstava. Također, med dobiven od usnača jedan je od najkvalitetnijih (Heywood, 1995). Neke od najpoznatijih vrsta koje karakteriziraju navedena svojstva su ljekovita kadulja (*Salvia officinalis* L.), ružmarin (*Rosmarinus officinalis* L.), lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.), origano (*Origanum vulgare* L.) i metvica (*Mentha* sp.). Ovim biljkama možemo pridružiti još jednog predstavnika, vrtni vrisak ili bresinu, također zvanog i čubar (*Satureja hortensis* L.). Vrtni vrisak je jedna od pet poznatih vrsta roda vrisaka, dok su ostale vrste: primorski vrisak (*S. montana* L.), planinski vrisak (*S. subspicata* Vis.), klinastolisni vrisak (*S. cuneifolia* Ten.) i Visijanijev vrisak (*S. visianii* Šilić) (Nikolić, 2017; Šilić, 1979; Kremer i sur., 2015; Nikolić, Milović, Bogdanović i Jasprica, 2015).

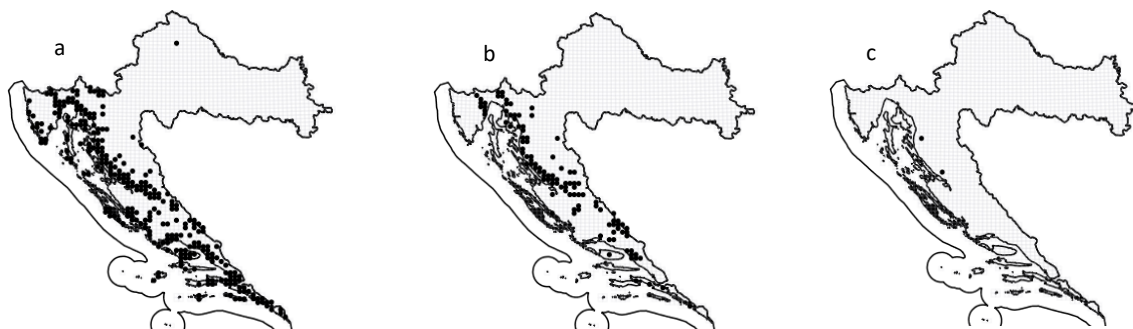
Vrste roda vrisak su široko rasprostranjene na područjima kamenjarskih pašnjaka i suhih kamenitih travnjaka. Karakteristike ovog roda su: polugrmoliki rast biljaka, aromatičan miris, žljezde s eteričnim uljima, četverobridna stabljika, listovi koji su na stabljici postavljeni nasuprotno te boja cvijeta koja varira od bijele do tamno ljubičaste. Vrste roda vrisak čine neke od važnih tipova vegetacije Sredozemlja (Blondel i Aronson, 2004).

Primorski vrisak ima bijele cvjetove te raste kao žilavi polugrm. Stabljike su uspravne i uzdignute od tla, a na staništima sa strmim padinama povijaju se u luku prema gore. Visina polugrma najčešće iznosi 10 - 40 cm, a rjeđe 70 cm. Čaška je duga 4 - 5 mm, a stabljika na neodrvljenom dijelu je dlakava. Listovi su postavljeni nasuprotno, te su hrapavi na rubu i s obje strane sadrže žljezdane dlake s eteričnim uljima (Šilić, 1979; Kovačić i sur., 2008). Rasprostranjen je na području južne Europe i Sredozemlja (Kremer i Tomaić, 2015; Kovačić i sur., 2008).

Planinski vrisak ima izrazito ljubičaste cvjetove, raste kao nizak polugrm, visine 8 - 20 cm. Stabljike su uspravne, bez dlaka i glatke, a poprečni presjek je izrazito četverobridan. Listovi su debeli, kožasti te po rubu glatki ili hrapavi i imaju žljezdane dlake s donje ili s obje strane. Čaška je duga 5 - 6 mm, najviše 11 mm, tamnozelene ili tamne ljubičaste boje (Šilić, 1979). Planinski vrisak je istočnojadranski endem (Kovačić i sur., 2008). Rasprostranjen je u Italiji (okolina Trsta), Sloveniji, Hrvatskoj i Albaniji (Kremer i Krušić Tomaić, 2015; Šilić, 1983).

Također, postoji križanac planinskog i primorskog vrisaka koji se naziva krški vrisak (*Satureja × karstiana* Justin) i pojavljuje se na područjima gdje se planinski vrisak dotiče s primorskim (Kremer i Krušić Tomaić, 2015). Budući da je planinski vrisak endem i križanac je endem. O krškom vrisaku u botaničkoj literaturi zabilježeno je da je polugrm visok oko 30 cm. Izdanci na poprečnom presjeku su tupo četverobridni i sa svih strana rijetko dlakavi. Hrapavi listovi s obje strane imaju žljezdaste dlake u obliku točkica. Cvat je dug oko 10 cm. Cvjetovi su dugi oko 13 mm. Čaška je crvenoljubičasta, cijev bljeđa (Šilić, 1979).

Primorski vrisak raste na toplim i suhim staništima i možemo ga pronaći na prisojnim padinama planina, za razliku od planinskog vrisaka koji uspijeva na hladnijim staništima koja su najčešće izložena udarima bure. Primorski vrisak je u Hrvatskoj najrasprostranjeniji na području Istre, Gorskog kotara, Velebita i Dalmacije, dok je planinski vrisak rasprostranjen na višim nadmorskim visinama tih istih područja koja su prikazana na slici 1 (Nikolić, 2017; Šilić, 1984). Slika 2 prikazuje dva lokaliteta na Velebitu koja se navode u bazi podataka FCD kao staništa krškog vrisaka (Nikolić, 2017). U knjizi (Šilić, 1979) navode se još neki lokaliteti na području Slovenije i Hercegovine i u Hrvatskoj na području Istre i Učke (Šilić, 1979). U radu (Trinajstić, 2007) naveden je i jedan lokalitet u Bosni.



Slika 1 Rasprostranjenost u Hrvatskoj (FCD): a) primorskog vrisaka; b) planinskog vrisaka; c) krškog vrisaka

Na ovo istraživanje potaklo nas je što u nama dostupnoj literaturi nismo mogle pronaći odgovarajuće informacije o križancu primorskog i planinskog vrisaka, krškom vrisaku. Ciljevi ovog istraživanja su istražiti lokalitete na kojima se zajedno pojavljuju primorski i planinski vrisak te utvrditi pojavljuje li se i krški vrisak na tim lokalitetima. Željelo smo proučiti i usporediti mikromorfološka i makromorfološka obilježja ovih svojti i ustanoviti sličnosti i razlike roditeljskih vrsta i njihovog križanca te olakšati prepoznavanje križanca od roditeljskih biljaka.

Pretpostavljamo da je križanac, krški vrisak, rasprostranjen na svim lokalitetima na kojima rastu i obje roditeljske vrste (primorski i planinski vrisak), te da se jasno razlikuje po svojim mikromorfološkim i makromorfološkim obilježjima od roditeljskih biljaka.

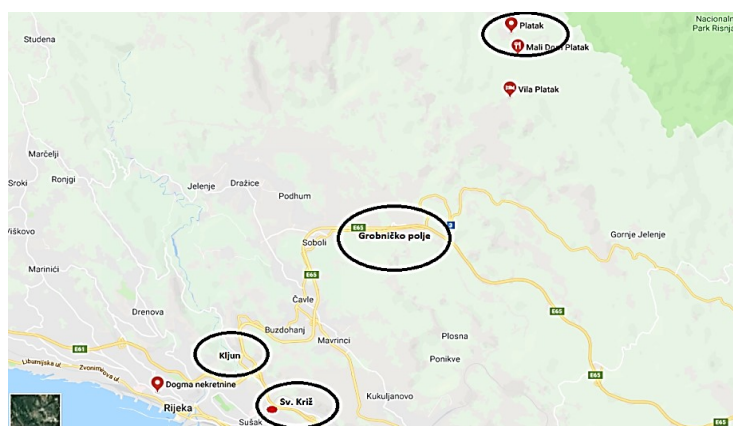
METODE RADA

Istraživanje je provedeno tijekom dvije godine, 2016. i 2017. (od srpnja do listopada kada su istraživane svojte u cvatu). Istraživanje se sastojalo od a) rada na terenu na kojem su prikupljeni uzorci biljaka; b) mjerenja pojedinih dijelova biljaka tj. makromorfoloških obilježja s ciljem utvrđivanja razlika u dimenzijama pojedinih biljnih organa ovih svojti; c) određivanja mikromorfoloških obilježja uzoraka biljaka u školskom biološkom laboratoriju koje je napravljeno uz pomoć lupe i mikroskopa. Pri radu su korišteni uzorci biljaka prikupljeni na terenu. Znanstveni nazivi biljaka usklađeni su s bazom podataka Flora Croatica Database (FCD), (Nikolić, 2017).

Lokaliteti i rad na terenu

Terenski dio istraživanja proveden je na lokalitetima u blizini grada Rijeke te u riječkom zaleđu: Sv. Križ (Rijeka), Grobničko polje, brdo Kljun kod Orehovice i Mali Platak koji su prikazani na slici 3. Lokaliteti su izabrani tako da se pokriju različite nadmorske visine (od 200 m do 1050 m). S lokaliteta Sv. Križ, Grobničko polje i Mali Platak uzeti su uzorci svojti i mjerena su makromorfološka obilježja, a na lokalitetima Kljun i Grobničko polje promatran je prostorni raspored triju svojti jer na njima rastu zajedno. Sve lokalitete karakterizira plitko i ponegdje kamenito tlo.

Padina Sv. Križ je okrenuta prema jugu i tako zaštićena od naleta bure. Nalazi se na oko 200 m nadmorske visine, nagutost terena iznosi 40° - 45° te na tom području nalazimo submediteransku listopadnu šikaru. Kljun je brdo na rubu kanjona Rječine. Nalazi se na 304 m nadmorske visine i na tom području nalazimo zapuštene pašnjake ljekovite kadulje i šikaru bijelog graba (*Carpinus orientalis* Mill.). Grobničko polje nalazi se na 436 m nadmorske visine i izloženo je udarima bure. Teren je ravan s malim brojem drveća te na njemu prevladavaju zajednice niskog raslinja s vrstama poput krškog zvonca (*Edraianthus tenuifolius* (Waldst. et Kit.) A. DC.) i uskolisne šaške (*Sesteria tenuifolia* Schrad.) (Horvat, 1962). Mali Platak nalazi se na nadmorskoj visini od oko 1050 m, stanište je niskog šaša (*Carex humilis* Leyss.) i primorske bukove šume, a teren je strm (Horvat, 1962).



Slika 3 Područje istraživanja: Grobničko polje, Sv. Križ, Mali Platak i brdo Kljun

Determinacija primorskog i planinskog vriska te njihovog križanaca na terenu je provedena uz pomoć ključa za determinaciju (Šilić, 1979). Rezultati promatranja vezani za stanište bilježeni su odmah na terenu, a kasnije su obrađeni. Na terenu je promatran prostorni razmještaj triju svojti u odnosu na ekspoziciju i utjecaj vjetera. Prikupljeni su podaci o sljedećim obilježjima staništa: nadmorska visina (mjerena GPS-om), ekspozicija i izloženost vjetru. Time se omogućilo da se prosječne visine



polugrmova biljaka dovedu u vezu s izloženošću buri i nadmorskim visinama na kojima su uzorci pronađeni.

Makromorfološka obilježja biljaka: visina, duljina i širina polugrma, mjerena su na terenu. Duljina polugrmova je mjerena u smjeru istok-zapad, a širina u smjeru sjever-jug kako bi se dominantna veličina (ako postoji) dovela u vezu sa stranama svijeta odnosno s drugim ekološkim čimbenicima povezanim s položajem biljke. Strane svijeta su određivane pomoću kompasa. Na svakom lokalitetu mjerene su visina i širina po 30 polugrmova vrste prisutne na tom lokalitetu. Podatci su bilježeni i kasnije su pomoću njih određene prosječne visine, duljine i širine polugrmova određene vrste na pojedinom lokalitetu.

Mjerenja makromorfoloških obilježja

Na ubranim uzorcima proučavana su sljedeća obilježja: duljina cvata, broj čaški na jednom cvatu (brojane su čaške jer vjenčići brzo otpadaju), duljina čaške, duljina zubaca čaške, duljina cijevi vjenčića, duljina gornje usne, širina donje usne, duljina vjenčića, duljina i širina listova s gornjeg, srednjeg i donjeg dijela stabljike. Za svaku svojtu uzeto je po 30 uzoraka za svako obilježje. Mjerenja su obavljena pomoću ravnala s milimetarskom podjelom. Rezultati mjerenja navedenih obilježja su bilježeni te je računata prosječna vrijednost za svako obilježje radi utvrđivanja razlika između makromorfoloških obilježja triju svojta.

Određivanje mikromorfoloških obilježja

Promatranje mikromorfoloških obilježja primorskog, planinskog i krškog vrisaka obavljeno je u školskom biološkom laboratoriju. Budući da uzorci za mikroskopiranje moraju biti što svježiji, do trenutka obrade pohranjivani su u hladnjak u plastičnim vrećicama. Neki uzorci su osušeni i od njih je napravljen herbarij kako bi se sačuvali dulje vrijeme. Od prikupljenih uzoraka svih triju svojti pripremani su mikroskopski preparati. Izrađeno je ukupno 60 preparata. Za svako obilježje je napravljeno 15 preparata (pet za jednu svojtu). Određivana obilježja su: oblik poprečnog presjeka stabljike, dlakavost stabljike, dlakavost lista, dlakavost čaške, žljezdane dlake na čaškama te dlakavost cvjetnih pupova. Tijekom mikroskopiranja bilježena su opažanja te su kao pomoć u obradi podataka izrađivane skice i fotografije promatranog preparata. Podaci o mikromorfološkim obilježjima su uz pomoć literature (Šilić, 1979) uspoređivani za primorski, planinski i krški vrisak.

REZULTATI

Na lokalitetima Grobničko polje i brdo Kljun primorski, planinski i krški vrisak rastu zajedno. Na lokalitetu Sv. Križ raste samo primorski vrisak, a na lokalitetu Mali Platak isključivo planinski visak. Na lokalitetima Grobničko polje i brdo Kljun pojavljuju se populacije primorskog i planinskog vrisaka koje se preklapaju. Na tim područjima je pronađen veći broj jedinki krškog vrisaka. Unutar staništa svaka svojta bira povoljne mikrolokalitete. Na lokalitetu Grobničko polje primorski vrisak se pojavljuje uz stabla crnog bora (*Pinus nigra* J. F. Arnold) ili uz neravnine na terenu koje ublažavaju djelovanje bure. Na lokalitetu su pronađene populacije krškog zvonca i uskolisne šašike koje rastu na područjima izloženim buri. Nalazimo i populacije Tommasinijeva devesilja (*Seseli montanum* L. ssp. *tommasinii* (Rchb. f.) Arcang.) koje raste na sušnim i toplijim staništima. Na lokalitetu Kljun uočene su razlike u prostornom rasporedu primorskog, planinskog i krškog vrisaka. Na južnoj, toplijoj i od bure zaštićenoj



padini raste populacija primorskog vrisaka, dok na sjevernoj, hladnijoj i buri izloženoj padini raste populacija planinskog vrisaka. Na grebenu brda uočene su jedinice krškog vrisaka.

Makromorfološka obilježja

Visina i oblik polugrma

U tablici 1 prikazane su prosječne vrijednosti za visinu polugrma primorskog, planinskog i krškog vrisaka.

Tablica 1 Razlike u prosječnoj visini polugrma

	Prosječna visina polugrma na lokalitetima (cm):		
	Primorski vrisak	Planinski vrisak	Krški vrisak
Grobničko polje	27,2	13,8	18,6
Sv. Križ	34,0	/	/
Mali Platak	/	10,2	/

Napomena: znak / označava da na lokalitetu nije pronađena svojta

U tablici 2 prikazane su prosječne vrijednosti za duljinu i širinu polugrma primorskog, planinskog i krškog vrisaka mjerene u smjeru istok-zapad, odnosno sjever-jug.

Tablica 2 Razlike u prosječnoj duljini i širini polugrma

	Prosječna duljina polugrma na lokalitetima (cm)			Prosječna širina polugrma na lokalitetima (cm)		
	Primorski vrisak	Planinski vrisak	Krški vrisak	Primorski vrisak	Planinski vrisak	Krški vrisak
Grobničko polje	37,8	24,8	32,4	41,4	25,4	30,4
Sv. Križ	55,6	/	/	42,6	/	/
Mali Platak	/	17,0	/	/	16,7	/

Napomena: znak / označava da na lokalitetu nije pronađena svojta

Primorski vrisak (slika 4) na lokalitetu na kojem raste s ostale dvije svojte ima prosječnu visinu 27,2 cm (min 20 - max 33 cm), a na nižim nadmorskim visinama gdje raste sam (lokalitet Sv. Križ) 34 cm (27 - 40 cm) (tablica 1). Prosječna duljina i širina polugrma primorskog vrisaka pokazuju da polugrmi rastu u izduljenom obliku u kojem jedna dimenzija dominira (slika 5). Ova je karakteristika posebno uočljiva na nižim nadmorskim visinama (lokalitet Sv. Križ) na kojem primorski vrisak raste sam. Prosječna širina polugrma primorskog vrisaka na tom je lokalitetu 42,6 cm, a prosječna duljina 55,6 cm (tablica 2).

Planinski vrisak (slika 4) nižeg je rasta od primorskog vrisaka, raste kao polugrm u prosjeku visok 13,8 cm (10 - 22 cm) na lokalitetu Grobničko polje gdje raste s ostale dvije svojte, a na višim nadmorskim visinama (lokalitet Mali Platak) 10,2 cm (8 - 12 cm) (tablica 1). Njegova se duljina i širina kod većine uzoraka podudaraju što je vidljivo u tablici 2, odnosno polugrmi rastu tako da polugrm odozgo ima kružni oblik. Uočeno je da planinski vrisak raste u skupinama od nekoliko jedinki te je ponekad teško odrediti točan broj jedinki. Ovo je svojstvo izraženo na višim nadmorskim visinama gdje skupine polugrma podsjećaju na tepihe (slika 6). Prilikom istraživanja nije uočen primjer na kojem se vidi da se biljka širi vegetativno iz postranih izdanaka.

Križancu, krškom vrisaku (slika 4) izmjerena je prosječna visina od 18,6 cm (16-24 cm) što je između prosječnih visina planinskog vrisaka i primorskog vrisaka. Prosječna širina polugrma krškog vrisaka je 30,4 cm, a duljina 32,4 cm. Oblik grma križanca je sličan obliku polugrma primorskog vrisaka, odnosno gledano odozgo oblik je nepravilan (tablica 2). Nije uočena povezanost između mjerenih duljina i širina polugrma sa smjerovima u kojima su mjerene.



Slika 4 Uzorak primorskog, krškog i planinskog vrisaka (s lijeva na desno) s lokaliteta Grobničko polje



Slika 5 Izduženi polugrm primorskog vrisaka na lokalitetu Grobničko polje



Slika 6 Niz polugrmova kružnog oblika planinskog vrisaka na lokalitetu Grobničko polje

Duljina cvata i boja vjenčića

Cvat je dio izdanka biljke koji na svojim ograncima nosi cvjetove. Vrijednosti duljine cvata za svojite na promatranim lokalitetima prikazane su u tablici 3.

Tablica 3 Prosječna duljina cvata primorskog, planinskog i krškog vrisaka na lokalitetu Grobničko polje, planinskog vrisaka na lokalitetu Mali Platak i primorskog vrisaka na lokalitetu Sv. Križ

	Prosječna duljina cvata na lokalitetu (cm)		
	Primorski vrisak	Planinski vrisak	Krški vrisak
Grobničko polje	5,00	1,99	4,85
Sv. Križ	5,52	/	/
Mali Platak	/	1,83	/

Napomena: znak / označava da na lokalitetu nije pronađena vrsta

Prosječna duljina cvata primorskog vrisaka (slika 7) na lokalitetu Grobničko polje iznosi 5,00 cm (3 - 7 cm), a na lokalitetu na kojem raste sam (Sv.Križ) 5,52 cm (5,5 - 7 cm). Prosječna duljina cvata planinskog vrisaka (slika 7) na lokalitetu Grobničko polje iznosi 1,99 cm (1,5 - 3 cm), a na lokalitetu na kojem raste sam (Mali Platak) 1,83 cm (1,4 - 2 cm). Prosječna duljina cvata krškog vrisaka (slika 8) na lokalitetu Grobničko polje iznosi 4,85 cm (3 - 7 cm). Po ovom je obilježju krški vrisak sličan primorskom vrisaku čiji je cvat između 4 cm i 7 cm te rijetko kada ima cvat dugački kao planinski vrisak između 1 cm i 3 cm.



Slika 7 Cvat primorskog (lijevo) i planinskog vrisaka (desno)



Slika 8 Cvat krškog vrisaka

Vjenčići primorskog vrisaka su bijele boje s nekoliko ljubičastih točkica i žutih mrlja ili rjeđe neznatno ljubičasti (slika 9 a)). Vjenčići planinskog vrisaka intenzivno su ljubičaste boje (slika 9 b)). Vjenčići krškog vrisaka su redovito svjetlo ljubičaste, gotovo ružičaste boje, svjetliji od vjenčića planinskog vrisaka i znatno tamniji od vjenčića primorskog vrisaka (slika 9 c)). Na unutarnjoj strani donje usne nalaze se ljubičaste pjege, na srednjem dijelu je najveća, a ostale su sitnije.



Slika 9 Boja vjenčića (lokalitet Grobničko polje): a) primorski vrisak b) planinski vrisak c) krški vrisak

U tablici 4 je prikazan prosječan broj čaški na jednoj stabljici primorskog, planinskog i krškog vrisaka.

Tablica 4 Razlike u prosječnom broju čaški na jednom cvatu primorskog, planinskog i krškog vrisaka na lokalitetu Grobničko polje

Prosječan broj čaški na jednom cvatu	Primorski vrisak	Planinski vrisak	Krški vrisak
	40	13	42

Primorski vrisak u prosjeku ima 40 (27 - 61) čaški na jednom cvatu, dok ih planinski vrisak prosječno ima 13 (8 - 22). Krški vrisak ima u prosjeku 42 (24 - 65) što je sličnije primorskom vrisaku.

Duljina čaške, cijevi vjenčića i zubaca na čaški

U tablici 5 prikazane su prosječne vrijednosti duljine čaške, cijevi vjenčića i zubaca na čaški za primorski, planinski i krški vrisak.

Tablica 5 Razlike u prosječnim vrijednostima duljine čaške, cijevi vjenčića i zubaca na čaški za primorski, planinski i krški vrisak na lokalitetu Grobničko polje

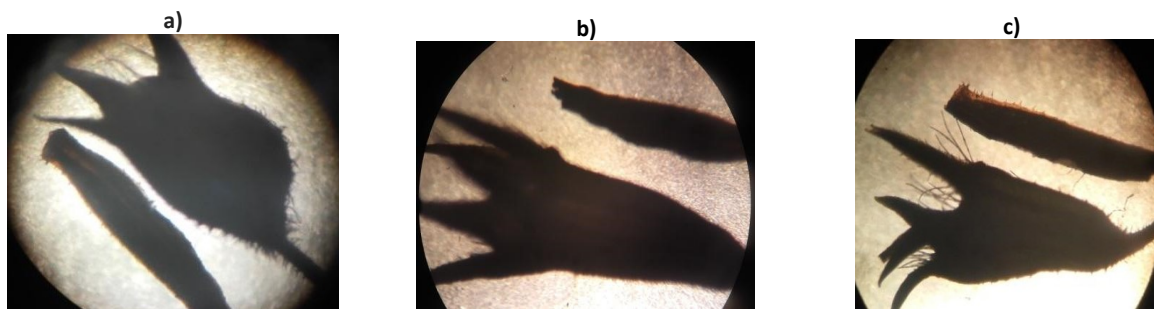
	Primorski vrisak	Planinski vrisak	Krški vrisak
Prosječna duljina čaške (mm)	2,7	6,2	4,5
Prosječna duljina cijevi vjenčića (mm)	3,8	6,4	3,8
Prosječna duljina zubaca (mm)	1,1	2,7	1,25

Prosječna duljina čaške primorskog vrisaka (slika 10 a)) iznosi 2,7 mm (2,5 - 3 mm), prosječna duljina cijevi vjenčića 3,8 mm (2,5 - 5 mm), a duljina zubaca 1,1 mm (1 - 1,5 mm). Čaška primorskog vrisaka je sulapna tj. lapovi su srasli, a u donjem dijelu je zaobljena. Ima pet malih i tankih zubaca koji čine trećinu čaške. Cijev vjenčića redovito nadvisuje čašku, a dva zupca ispod donje usne kraći su od ostalih.

Čaške planinskog vrisaka (slika 10 b)) veće su od čaški primorskog vrisaka. Prosječna duljina čaški iznosi 6,2 mm (6 - 8 mm). Sulapne čaške su izduženog oblika, imaju ravne stijenke i pet zubaca koji čine trećinu čaške. Prosječna duljina zubaca iznosi 2,7 mm (2-4 mm), dva zupca ispod gornje usne kraća su od ostalih. Prosječna duljina cijevi vjenčića je 6,4 mm (6 - 8 mm). Čaška planinskog vrisaka često je obojena

u ljubičasto od vrha lapa do polovice čaške. Na lokalitetu Mali Platak pronađene su čaške koje su gotovo cijele ljubičaste.

Oblik čaške krškog vrisaka (slika 10 c)) sličniji je obliku čaške planinskog vrisaka, a prosječna duljina čaške je između prosječnih duljina čaške primorskog i planinskog vrisaka i iznosi 4,5 mm (4 - 5,5 mm). Čaška je sulapna, s pet zubaca čija je prosječna duljina 1,25 mm (1 - 2 mm) te izduženog oblika.



Slika 10 Oblik čaški: a) primorski vrisak b) planinski vrisak c) krški vrisak

Duljina i širina listova

U tablici 6 su prikazane prosječne duljine i širine listova primorskog, planinskog i krškog vrisaka s gornjeg, srednjeg i donjeg dijela njihove stabljike.

Tablica 6 . Razlike u prosječnoj duljini i širini listova uzoraka primorskog, planinskog i krškog vrisaka s gornjeg, srednjeg i donjeg dijela njihove stabljike s lokaliteta Grobničko polje

	Prosječna duljina lista na dijelovima stabljike (mm)			Prosječna širina listova na dijelovima stabljike (mm)		
	Primorski vrisak	Planinski vrisak	Krški vrisak	Primorski vrisak	Planinski vrisak	Krški vrisak
gornji	9,55	11,85	8,6	1,82	2,02	1,6
srednji	16,85	15,85	15,75	2,82	2,69	2,72
donji	9,05	10,45	9,8	1,55	1,62	1,86

Listovi primorskog, planinskog i krškog vrisaka u prosjeku su sličnih duljina i širina. Kod sve tri svojte najdulji i najširi listovi nalaze se u sredini stabljike, a najširi dio lista redovito se nalazi u gornjoj trećini lista.

Duljina vjenčića, duljina gornje usne i širina donje usne vjenčića

Vjenčići primorskog, planinskog i krškog vrisaka se sastoje od dvije usne. U tablici 7 su prikazane prosječne duljine gornje usne i prosječne širine donje usne i duljina vjenčića za tri svojte.

Tablica 7 Razlike u prosječnim duljinama gornje usne vjenčića, prosječne širine donje usne vjenčića i duljine vjenčića kod primorskog, planinskog i krškog vrisaka na lokalitetu Grobničko polje

	Primorski vrisak	Planinski vrisak	Krški vrisak
Prosječna duljina gornje usne (mm)	2,65	3,45	3,5
Prosječna širina donje usne (mm)	5,35	5,75	4,95
Prosječna duljina vjenčića (mm)	7,05	10,3	8,05

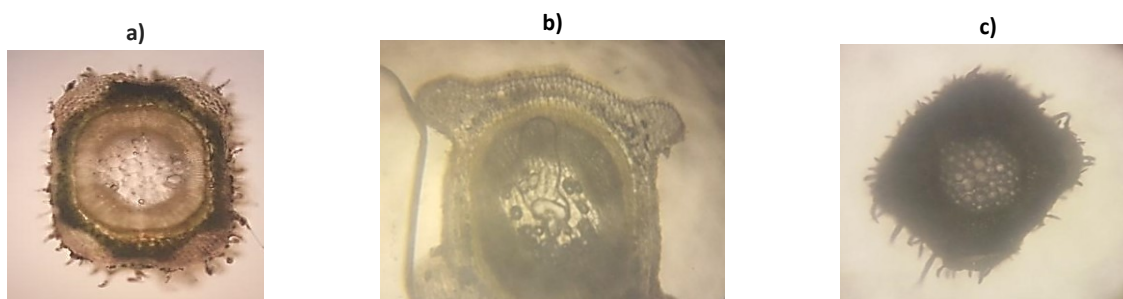
Vjenčići primorskog vrisaka manji su od vjenčića planinskog i krškog vrisaka. Prosječna duljina vjenčića primorskog vrisaka iznosi 7,05 mm (6 - 8,5 mm), dok je prosječna duljina vjenčića planinskog vrisaka 10,3 mm (10 - 11 mm). Prosječna duljina vjenčića krškog vrisaka je između prosječnih duljina vjenčića primorskog i planinskog vrisaka i iznosi 8,05 mm (6-10 mm). Prosječna duljina gornje usne primorskog vrisaka iznosi 2,65 mm (2,5 - 3 mm), planinskog vrisaka 3,45 mm (3 - 4 mm), a križanca 3,5 mm (3,5 - 4,5

mm). Prosječna širina donje usne je slična kod sve tri svojte, iznosi 5,35 mm (5 - 6 mm) kod primorskog vriska, 5,75 mm (5 - 6 mm) kod planinskog vriska i 4,95 mm (4,5 - 5 mm) kod krškog vriska (tablica 7).

Mikromorfološka obilježja

Oblik i dlakavost stabljike

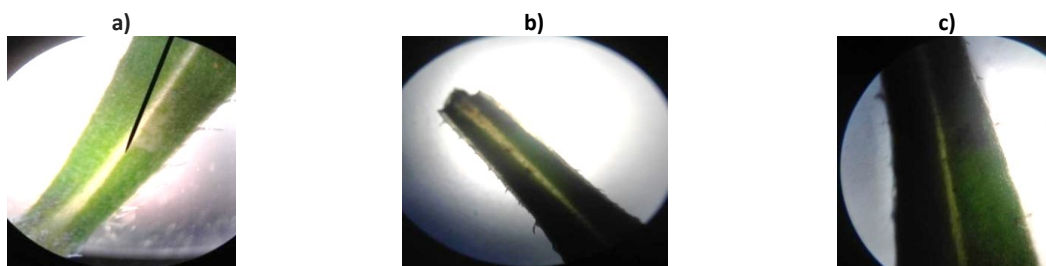
Poprečni presjek stabljike je promatran na njezinom srednjem dijelu. Poprečni presjek stabljike primorskog vriska ima oblik pravokutnika sa zaobljenim vrhovima na kojima je uočen kolenhim, biljno potporno tkivo (slika 11 a)). Stabljika je izrazito dlakava sa sve četiri strane što je vidljivo i golim okom kao bijelo-siva površina. Dlake su bijele te u luku usmjerene prema dolje. Poprečni presjek stabljike planinskog vriska ima dvije strane paralelne, a druge dvije izbočene. Bridovi su ispupčeni, a stabljika gotovo u potpunosti glatka (slika 11 b)). Poprečni presjek stabljike krškog vriska je pravokutnog oblika sa zaobljenim bridovima. Stabljika je sa sve četiri strane obrasla dlakama, koje su rjeđe u odnosu na primorski vrisak (slika 11 c)).



Slika 11 Poprečni presjek stabljike u njezinom srednjem dijelu (Grobničko polje): a) primorski vrisak b) planinski vrisak c) krški vrisak

Dlakavost lista

Dlakavost listova primorskog vriska vidljiva je golim okom. Listovi su na dodir hrapavi, a uočljiv je i veći broj žljezdanih dlaka na njihovim površinama. Listovi planinskog vriska su glatki, ponekad blago nazubljeni pri vrhu. Kod obje vrste na rubovima donjeg dijela lista nalaze se dlake (slika 12 a) i b)), čija se gustoća smanjuje prema sredini lista. Kod primorskog vriska one su redovito dulje, izražajnije i gušće. Kod krškog vriska također nalazimo nazubljenost pri vrhu lista, a u donjem dijelu se nalaze rijetko raspoređene dlake (slika 12 c)).

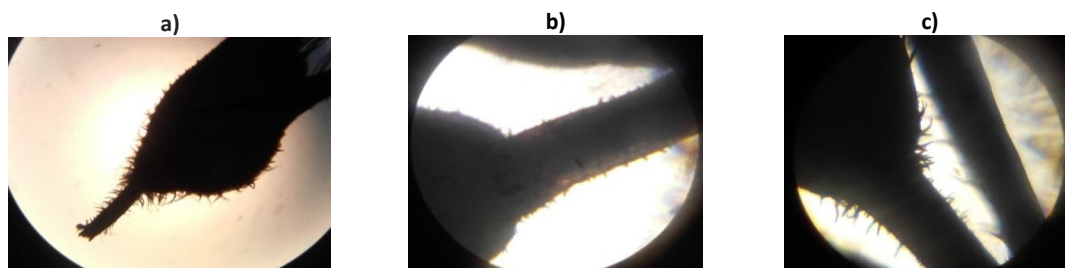


Slika 12 Mikroskopski prikaz donjeg dijela lista (Grobničko polje): a) primorski vrisak b) planinski vrisak c) krški vrisak

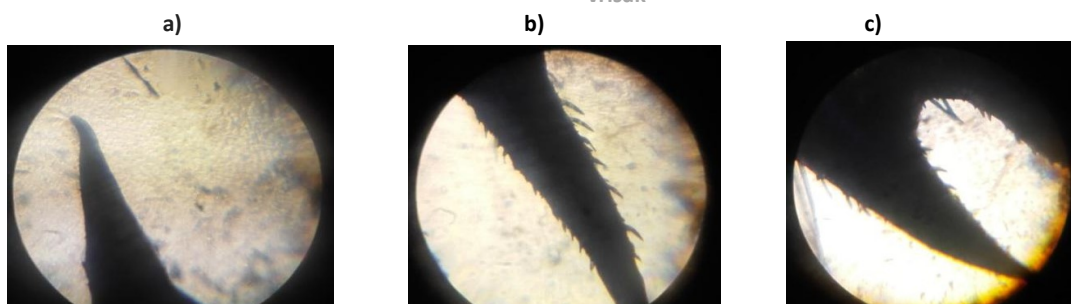
Dlakavost čaške i žljezdane dlake na čaškama

Čaške primorskog i planinskog vriska u donjem su dijelu obrasle gustim dlakama koje se nastavljaju na stapku cvijeta (slika 13 a) i b)). Kod planinskog vriska dlake su znatno kraće. Nasuprot primorskom vrisku čiji su lapovi glatki, bez dlaka ili s rijetko raspoređenim izbočinama (slika 14 a)), lapovi planinskog vriska, posebno oni većih dimenzija obrasli su stršećim dlakama (slika 14 b)). Čaška krškog vriska obrasla je prorijeđenim, sitnim dlakama koje kao i kod roditeljskih biljaka prelaze na stapku cvijeta

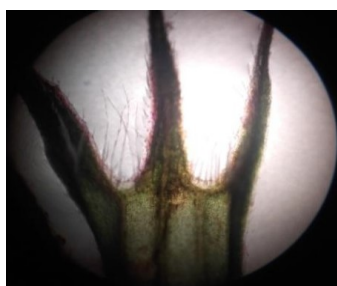
(slika 13 c)). Dlačice na lapovima krškog vrisaka obrastaju donju polovicu ili najviše dvije trećine lapa (slika 14 c)). Iz unutarnjeg dijela čaški triju svojiti strše bijele, člankovite dlake koje dosežu polovicu lapa (slika 15). Površina čaške je prekrivena okruglim uljnim žlijezdama čija je brojnost najizraženija kod primorskog vrisaka (slika 16).



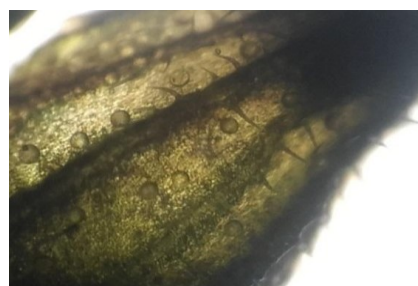
Slika 13 Dlakavost donjeg dijela čaške i stapke cvijeta (Grobničko polje): a) primorski vrisak b) planinski vrisak c) krški vrisak



Slika 14 Dlakavost lapa (Grobničko polje): a) primorski vrisak b) planinski vrisak c) krški vrisak



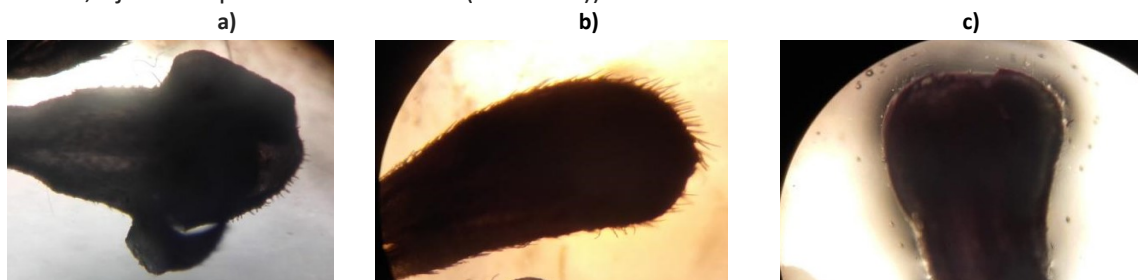
Slika 15 Dlake koje strše iz unutrašnjosti čaške (primorski vrisak; Grobničko polje)



Slika 16. Površina čaške prekrivena uljnim žlijezdama (primorski vrisak; Grobničko polje)

Dlakavost cvjetnih pupova

Osim prema boji cvjetni vjenčić se kod primorskog, planinskog i krškog vrisaka razlikuje i prema dlačicama koje obrastaju zatvorene cvjetne pupove. Cvjetne pupove primorskog i planinskog vrisaka obrastaju gusto raspoređene dlake koje su dulje kod planinskog (Slika 17 a) i b)). Cvjetne pupove planinskog vrisaka obrastaju duge, guste dlake, dok su pupovi krškog vrisaka obrasli nezamjetnim, kratkim, rijetko raspoređenim dlakama (Slika 17 c)).



Slika 17 Dlakavost pupova (Grobničko polje): a) primorski vrisak b) planinski vrisak c) krški vrisak



RASPRAVA

Istraživanje je pokazalo da križanac primorskog i planinskog vrisaka, krški vrisak raste na području Grobničkog polja i brda Kljun tj. na mjestima gdje se primorski i planinski vrisak preklapaju čime je potvrđena pretpostavka istraživanja. Na tim lokalitetima dolazi do preklapanja uvjeta pogodnih za rast primorskog i planinskog vrisaka. Također, može se pretpostaviti da je križanac rasprostranjeniji, nego što bi se po literaturi moglo zaključiti.

Križanac, krški vrisak je uočen prije svega zbog posebne boje cvjetova koja ne odgovara roditeljskim biljkama, ali je prema ostalim morfološkim obilježjima njima vrlo sličan. Sličan primjer na istraživanom području je i križanac *Centaurea x sordida* Willd. Koja se od roditeljskih vrsta razlikuje bojom cvatova (Pavletić i Trinajstić, 1983).

Primorski vrisak je viši od planinskog jer raste u područjima koja su zaštićena od bure i na kojima prevladavaju zajednice prilagođene toplijim i sušnim uvjetima, primjerice jesenska šašika i druge trave. Pretpostavljamo da primorski vrisak svojom visinom pokušava nadvisiti okolne vrste kako bi bio izloženiji svjetlosti i dostupniji kukcima potrebnim za oprašivanje. Planinski vrisak raste u obliku niskih polugrmova priljubljen uz tlo kako bi smanjio utjecaj bure čija se jačina smanjuje pri tlu zbog utjecaja trenja. Visine primorskog i planinskog vrisaka su u skladu s podacima Šilića (1979.). Visina krškog vrisaka, koja je između njegovih roditeljskih biljaka, nije u skladu s podacima Šilića (1979.) koji navodi da krški vrisak ima visinu oko 30 cm, dok je provedeno istraživanje pokazalo da je visok u prosjeku 18,6 cm. Također je visina primorskog vrisaka u skladu s podacima Kovačić i sur. (2008). Pretpostavljamo da u različitim krajevima i na različitim nadmorskim visinama krški vrisak ima različitu visinu i to upućuje na daljnja istraživanja. Istraživanje je pokazalo da se prosječna visina polugrmova povećava sa smanjenjem nadmorske visine i obrnuto. Pretpostavljamo da je to zbog prilagodbe na klimu te se zato na višim nadmorskim visinama smanjuje visina polugrma. Osim prema visini, ove se tri svojte razlikuju i prema obliku polugrma. Naime, planinski vrisak najčešće raste u skupinama od nekoliko jedinki priljubljenih uz zemlju, kako bi se zaštitio od prejake transpiracije odnosno isušivanja uzrokovanog puhanjem bure (Denffer i Ziegler, 1982) dok primorski i krški rastu kao zasebni polugrmovi. Osim toga rastući u skupinama priljubljenih polugrmova planinski vrisak štiti tlo od raspršivanja čestica.

Istraživanje je pokazalo da se krški vrisak na terenu i kada nije doba cvatnje može lako raspoznati prema duljini čaške koja ima za svaku istraživanu svojtu raspon vrijednosti koje se ne preklapaju.

Primorski vrisak ima sitniju čašku, kraću cijev vjenčića i kraći vjenčić u odnosu na planinski vrisak. Pretpostavljamo da je to zbog međusobne prilagodbe različitih vrsta oparašivača i veličine cvjetova. Duljina cvata i duljina čaški primorskog i planinskog vrisaka u skladu su s podacima Šilića (1979.). Duljina vjenčića je u skladu s podacima Kovačić i sur. (2008). Planinski vrisak na svojim stabljikama nosi znatno manji broj cvjetova od primorskog i krškog vrisaka čiji je broj cvjetova približno jednak. Pretpostavljamo da je to zbog toga što je u planinskim krajevima razdoblje vegetacije kraće. Prema duljini cvata krški vrisak često se zamjenjuje s primorskim jer im je duljina cvata gotovo ista, dok je kod planinskog vrisaka znatno kraća.



Biljke na sušnijim staništima u pravilu imaju manju površinu listova kako bi spriječile isušivanje (Denffer i Ziegler, 1982; Thompson, 2005). Prema rezultatima istraživanja vrijednosti duljine i širine listova svih triju svojti su slične pa ovo pravilo ne možemo primijeniti što upućuje na daljnja istraživanja.

Osim prema makromorfološkim obilježjima, sve tri svojte se razlikuju i prema mikromorfološkim obilježjima pojedinih biljnih organa. Pri čemu poprečni presjek stabljike primorskog vrisaka ima pravokutni oblik sa zaobljenim bridovima na kojima je uočen kolenhim, biljno potporno tkivo koje biljci daje čvrstoću. Stabljika primorskog vrisaka je najdlakavija od triju svojti. Dlake su uočljive golim okom kao bijelo-siva površina što olakšava determinaciju u razdoblju tijekom kojega biljka ne cvjeta. U luku su usmjerene prema dolje što prema našoj pretpostavci otežava penjanje kukaca uz stabljiku. Osim toga, guste dlake sprječavaju transpiraciju što im je potrebno jer rastu na područjima izloženim suncu (Denffer i Ziegler, 1982). Za razliku od primorskog vrisaka planinski vrisak ima posve glatku stabljiku čiji je poprečni presjek također četverobridan. U izbočenim bridovima nailazimo na kolenhim, koji onemogućava savijanje pod naletima vjetra kojemu su staništa planinskog vrisaka izložena. Stabljika križanca je rjeđe dlakava od stabljike primorskog vrisaka pa se prema ovom obilježju raspoznaje isključivo uspoređivanjem s roditeljskim biljkama.

Dlake koje strše iz unutarnjeg dijela čaške zajedničko su obilježje svih triju svojti te proučavanje njihove uloge upućuje na daljnja istraživanja. Naša je pretpostavka da one sprječavaju ulazak kukaca u čašku i izgrizanje mladih plodova nakon oprašivanja. Dlakavost baze čaške i cvjetne stapke jedno je od mikromorfoloških obilježja po kojima je moguće lako razlikovati ove svojte barem na lokalitetima na kojima je provedeno istraživanje. Žljezdane dlake se kod sve tri svojte pojavljuju na površini listova te površini čaške. One štite biljku od isušivanja, a činjenica da su najizraženije kod primorskog vrisaka može se povezati s time da on raste na sušnijim staništima. Površine cvjetnih pupova s gornje strane obrasle su dlakama koje su najdulje kod planinskog vrisaka, a pretpostavljamo da služe za obranu od kukaca.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja mogu se donijeti slijedeći zaključci:

- ✱ Krški vrisak se u prirodi za vrijeme cvatnje najlakše raspoznaje po boji vjenčića, a kada ne cvate prema duljini čaške.
- ✱ Razlog zašto se krški vrisak često zamjenjuje s primorskim je slična duljina cvata.
- ✱ Krški vrisak je po najvećem broju obilježja između roditeljskih vrsta.
- ✱ Visina polugrmova obrnuto je proporcionalna nadmorskoj visini.
- ✱ Krški vrisak je u mikromorfološkim obilježjima: dlakavosti stabljike, cvjetnih pupova, listova i lapova preuzeo srednju osobinu.
- ✱ Mikromorfološko obilježje u kojem je krški vrisak poprimio osobinu sličniju primorskom vrisaku je oblik poprečnog presjeka stabljike.
- ✱ Mikromorfološka obilježja koja su jednaka kod sve tri svojte su: dlakavost unutarnjeg dijela čaške i dlakavost na listovima.

LITERATURA

- Blamey, M. i Grey-Wilson, C. 2015. Wild flowers of the Mediterranean. London, New Delhi, New York, Sidney, Bloomsbury, str. 15.
- Blondel J. i Aronson, J. 2004. Biology and wildlife of the Mediterranean region (2. neizmijenjeno izd.), Oxford university press, New York, 121.



- Denffer, D. i Ziegler, H. 1982. Udžbenik botanike za visoke škole: morfologija i fiziologija. Školska knjiga, Zagreb, str. 123. i 200.
- Heywood V. i sur. (ur.) 1995. Cvetnice: kritosemenke sveta. Ljubljana, DZS.
- Horvat I. 1962. Vegetacija planina zapadne Hrvatske. Prirodoslovna istraživanja JAZU, ser. Acta Botanica 2 (30): str. 5-173.
- Jasprica, N. 2015. *Satureja visianii* Šilić. U: Nikolić, T., Milović, M., Bogdanović, S., Jasprica, N. Endemi u hrvatskoj flori. Alfa d.d., Zagreb, str. 415.
- Kovačić, S., Nikolić, T., Ruščić, M., Milović, M., Stamenković, V., Mihelj, D., Jasprica, N., Bogdanović, S., Topić, J. 2008. Flora jadranske obale i otoka: 250 najčešćih vrsta. PMF Sveučilišta u Zagrebu i Školska knjiga, Zagreb, str. 202.
- Kremer, D. i Krušić Tomaić, I. 2015. Od sjemenke do ploda: Vodič kroz svijet drveća i grmlja Nacionalnog parka Sjeverni Velebit. Javna ustanova "Nacionalni park Sjeverni Velebit", Krasno, str. 234.-236.
- Kremer, D., Košir, I. J., Zovko Končić, M., Čerenak, A., Potočnik, T., Srečec, S., Randić, M., Kosalec, I. 2015. Antimicrobial and antioxidant properties of *Satureja montana* L. and *S. subspicata* Vis. (Lamiaceae). Current Drug Targets, 16, 1623-1633.
- Nikolić, T. 2017. Flora croatica database (FCD). Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, URL: <http://hirc.botanic.hr/fcd>. (pristupljeno: 27.kolovoza 2017.)
- Pavletić, T. i Trinajstić, I. 1983. Istraživanja taksonomskih odnosa između vrsta *Centaurea rupestris* L. i *C. fritschii* Hayek, te njihovog prirodnog hibrida *C. x sordida* Willd. (Asteraceae, sect. Acrocentron Cass. 1921). Acta Botanica Croatica, 42, 137-143.
- Šilić, Č. 1979. Monografija rodova *Satureja* L., *Calamintha* Miller, *Micromeria* Benth, *Acinos* Miller i *Clinopodium* L. u flori Jugoslavije. Zemaljski muzej B i H, Posebno izdanje, Sarajevo, str. 1– 440
- Šilić, Č. 1984. Endemične biljke. Svjetlost, OOUR Zavod za udžbenik i nastavna sredstva, Sarajevo, str. 110.
- Thompson, J. D. 2005. Plant evolution in the Mediterranean. Oxford university press, Oxford, str.114.
- Trinajstić, I. 2007. Novi prilog poznavanju florističkog sastava as. *Saturejo subspicatae-caricetum humilis* Trinajstić (1999) 2007, nom. corr. hoc loco iz Hrvatske i Bosne. Agronomski glasnik

UTJECAJ UV-ZRAČENJA I BILJNIH MACERATA NA KLIJAVOST SJEMENKI PŠENICE

Petra Rebić, 2. razred
Leona Zečević, 2. razred

Gimnazija Petra Preradovića, Virovitica
Mentor: Ines Tovarović

SAŽETAK

U ukupnom zračenju Sunca, ultraljubičastog zračenja ima najmanje, no ono uzrokuje najviše negativnih posljedica kao što su stvaranje slobodnih radikala, oštećenje stanica, mutacije i rak kože. Iako se često istražuje učinak UV-zračenja gotovo da ni ne postoje učenička istraživanja koja ispituju djelovanje UV-zračenja na klijavost, rast i razvoj biljaka. Kao zaštita od UV-zračenja sve se češće spominju prirodni biljni pripravci poput tinktura i macerata. Macerati su najčešće oblik prirodne kozmetike kod kojih se nerijetko ističe samo pozitivan učinak na kožu. Macerat gospine trave koristi se nakon izlaganja suncu jer pod utjecajem sunčevih zraka postaje toksičan. U ovom istraživanju odabrali smo pšenicu kao modelnu biljku jer nije zahtjevna za uzgoj, brzo raste i jeftina je. Hipoteza istraživanja je da će UV-zračenje smanjiti i usporiti klijavost sjemenki pšenice, a da će dodatak macerata smanjiti takav negativan utjecaj UV-zračenja na klijanje sjemenki. Čašice u koje smo posijali 2 g sjemenki pšenice su se redovito zalijevale i pratilo se vrijeme rasta mladica, izgled mladica, broj iskljanih sjemenki pšenice i ukupna biomasa pšenice 10 dana nakon sijanja. Nakon obrade rezultata zaključili smo kako UV-zračenje pozitivno utječe na klijavost sjemenki pšenice, a macerat gospine trave i macerat mrkve negativno utječu na klijanje sjemenki pšenice. Prema rezultatima istraživanja nismo mogli s dovoljnom sigurnošću potvrditi fototoksičnost macerata gospine trave na klijavost sjemenki pšenice i konačnu biomasu pšenice.

Ključne riječi: fototoksičnost, oksidacijski stres, biomasa

UVOD

Svaki dan izloženi smo djelovanju Sunčevog zračenja kao i većina ostalih organizama na Zemlji. Zastupljenost u ukupnom elektromagnetskom zračenju Sunca koje dopire na Zemlju je otprilike: vidljiva svjetlost – 50 %, infracrveno zračenje – 40 %, a ultraljubičasto zračenje – 10 % (Halepović-Đečević i Kaliterna, 2012.). Iako ultraljubičastog zračenja ima najmanje, ono uzrokuje najviše negativnih posljedica kao što su stvaranje slobodnih radikala, oštećenje stanica, mutacije i rak kože. Ukupno UV-zračenje može se podijeliti prema valnim duljinama na: UV-C zračenje čija je valna duljina manja od 280 nm i koje ne dopire do Zemljine površine, UV-B zrake čija je valna duljina između 280 i 320 nm i UV-A zrake valne duljine od 320 do 400 nm.

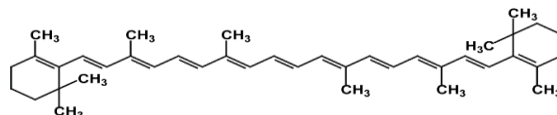
Eterična ulja su masne otopine biljnih aktivnih tvari. Ona pokazuju svojstva različitog loma svjetlosti i svojstva zakretanja ravnine polarizirane svjetlosti. Tekući ekstrakti pripremaju se potapanjem biljaka u odgovarajuće otapalo (najčešće je to voda, alkoholi glicerol i etanol, te smjese etanola i vode ili glicerola i vode) kojim se iz biljke izoliraju aktivni sastojci. Macerati se pripremaju potapanjem dijelova biljaka kroz određeno vrijeme u nekom polarnom ili nepolarnom otapalu bez zagrijavanja. Vrijeme maceracije i vrsta otapala ovisi o vrsti biljke ili aktivnoj tvari koju želimo izolirati. Cvjetovi gospine trave (*Hypericum perforatum* L.) maceriraju više tjedana u biljnim uljima (Marković, 2005.).



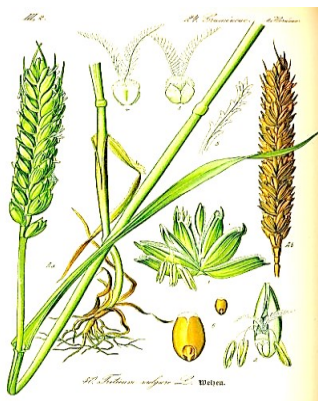
Slika 1 *Hypericum perforatum* L. - gospina trava

Gospina trava je trajna zeljasta biljka visoka 30 - 70 cm (slika 1). Samonikla je u Europi i Aziji, a kao korov se proširila Sjevernom Amerikom, sjevernom Afrikom i Australijom. Biljka sadrži eterično ulje u količini od 0,6 do 3 mL kg⁻¹. Eterično ulje bogato je terpenskim ugljikovodicima, a macerat gospine trave fenolnim spojevima i flavonoidima koji znatno pridonose farmakološkom djelovanju. Maceratu gospine trave boju daju naftodiantroni hipericin i pseudohipericin. Gospina trava pokazuje antibakterijsko djelovanje i odavno se smatra sredstvom za zacjeljivanje rana (kao macerat). Indicirana je za infekcije kože, rane, nagnječenja i opekline, lake i srednje teške depresiji i virusne infekcije, kao što su HIV i herpesvirusi. Macerat gospine trave koristi se nakon izlaganja suncu jer pod utjecajem sunčevih zraka postaje toksičan (Marković, 2005.).

Macerat korijena mrkve (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* (Hoffm.) Arcang.) sadrži visoku koncentraciju β -karotena (slika 2). Može se uzimati oralno i dermalno, a štiti kožu od oksidacijskih oštećenja tijekom izlaganja suncu, sprječava reakcije fotosjetljivosti te fototoksičnih efekata lijekova. Karoten djeluje isto kao i melanin, kao UV-filter jer adsorbira štetno UV-zračenje. On se prirodno nalazi u koži, ali njegovu količinu možemo i povećati uzimanjem pripravaka s karotenom.

Slika 2 Strukturna formula β -karotena

Pšenica (*Triticum aestivum* L.) pripada jednosupnicama, a potječe s područja Bliskog istoka. Pšenica je globalno najvažnija žitarica koja se koristi u ljudskoj prehrani (slika 3). Pšenična zrna su puna škroba pa se kao takva rabe u proizvodnji brašna za kruh, kolače i za fermentaciju, izradu piva, alkohola i biogoriva. Pšenica se sije kao krmno bilje za stočarstvo, a slama se može upotrebljavati kao hrana za stoku ili kao konstrukcijski materijal za izradu krovova. Pšenica je žitarica koja se uzgaja na najvećoj poljoprivrednoj površini od svih drugih vrsta hrane. Najznačajniji je ratarski usjev te je njome zasijana ¼ obradivih površina na svijetu. Pšenica je kontinentalna kultura koja se sije u proljeće (jara pšenica) ili u jesen (ozima pšenica). Najpovoljnija temperatura za njezino klijanje je 14 – 25 °C. Pri toj temperaturi za nicanje joj je potrebno 5 do 7 dana. Pri nižim temperaturama klijanje je sporije. Pšenica uspijeva na područjima s vrlo različitim količinom i rasporedom oborina. Najveći prinos postiže se uz ukupnu količinu raspoređenih oborina od 500 – 700 mm. U nedostatku vode smanjuje se prinos i kakvoća sjemenki. Pšenica iziskuje plodno tlo u kojemu je udio humusa veći od 2 %, a pH-vrijednost je blago kisela do neutralna ($\approx 6,5 - 7,5$) (Širanović, 2015.).

Slika 3 *Triticum aestivum* L. - pšenica

Macerati su najčešće oblik prirodne kozmetike kod kojih se nerijetko ističe samo pozitivan učinak na kožu. U ovom radu željeli smo ispitati kako UV-zračenje i biljni uljni macerati utječu na postotak klijavosti sjemenki pšenice i kako utječu na biomasu isključane pšenice. Hipoteza koju smo postavili na početku svog istraživanja glasi da će UV-zračenje smanjiti i usporiti klijavost sjemenki pšenice, a da će dodatak macerata smanjiti takav negativan utjecaj UV-zračenja na klijanje sjemenki (usporit će klijanje sjemenki pšenice i rast izdanaka pšenice). Pretpostavljamo da će biljne aktivne tvari u maceratima povoljno utjecati na klijavost sjemenki pšenice i da će smanjiti negativno djelovanje slobodnih radikala koje je potencijalno izazvalo UV-zračenje. Rezultati našeg istraživanja mogu poslužiti kao platforma za primjenu biljnih pripravaka u tretiranju sjemenki prije sadnje u svrhu većeg prinosa uzgajane kulture.

U istraživanju smo postavili dvije zavisne varijable (one koje ćemo pratiti). To su postotak isključanih sjemenki i biomasa pšenice 10 dana nakon sadnje. Nezavisne varijable istraživanja su UV-zračenje, temperatura i biljni uljni macerati (macerat gospine trave i macerat mrkve). Sve uzorke pšenice jednoliko ćemo zalijevati vodom iste temperature.

METODE RADA

Pripremanje macerata

Prije početka istraživanja pripremljen je macerat cvjetova gospine trave i macerat korijena mrkve. Macerat gospine trave pripremljen je tako da su svježiji cvjetovi gospine trave stavljeni u prozirnu staklenku i preliveni suncokretovim uljem. Sadržaj staklenke ostavljen je na suncu dva mjeseca, a zatim je macerat procijeđen i pohranjen u tamnu staklenku na hladno i mračno mjesto. Dobivena uljna otopina gospine trave bila je crvene boje (slika 4).



Slika 4 Priprema uljnog macerata gospine trave

Macerat korijena mrkve pripremljen je tako da je korijen mrkve nariban, stavljen u prozirnu staklenku i preliv suncokretovim uljem (slika 5). Sadržaj staklenke ostavljen je na suncu mjesec dana, a zatim procijeđen i pohranjen u tamnu staklenku na hladno i mračno mjesto. Dobivena uljna otopina korijena mrkve bio je žuto-narančaste boje.



Slika 5 Priprema uljnog macerata korijena mrkve

Priprema pšenice za sijanje

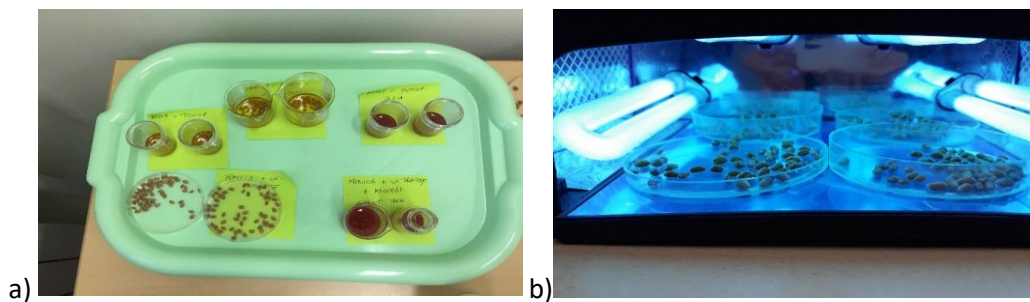
Kako bi se vidio utjecaj UV-zračenja i biljnih uljnih macerata na klijavost pšenice odredilo se sedam uzoraka za promatranje. Za svaki uzorak izvagalo se po 2 g cijelih i zdravih sjemenka pšenice. Prije sadnje broj sjemenki je izbrojan (tablica 1).

Tablica 1 Broj sjemenki pšenice u pojedinom uzorku

UZORAK	Broj posijanih sjemenki pšenice	
	SKUPINA 1	SKUPINA 2
1	57	57
2	53	53
3	55	56
4	59	53
5	51	52
6	56	56
7	55	53

Uzorci su pripremani na slijedeći način:

1. uzorak pšenice bila je kontrolna skupina i nju se nije tretiralo niti s UV-zračenjem niti s maceratima (slika 6a).
2. uzorak pšenice natopljena je prije sijanja na 5 h u uljni macerat mrkve (slika 6a).
3. uzorak pšenice natopljena je na 5 h u uljni macerat mrkve, a zatim su sjemenke izložene UV-zračenju (ukupne snage 36 W) na 10 minuta (slika 6). Nakon toga su sjemenke posijane.
4. uzorak pšenice natopljena je prije sijanja na 5 h u uljni macerat gospine trave (slika 6a).
5. uzorak sjemenki pšenice ozračena je na 10 minuta pod UV-zračenjem (slika 6b).
6. uzorak pšenice bila je izložena UV-zračenju na 10 minuta, a zatim su sjemenke natopljene na 5 h u uljni macerat gospine trave (slika 6). Nakon toga su se sjemenke bile posijane.
7. uzorak sjemenki najprije je izložena na 10 minuta pod UV-zračenjem zatim je namočena na 5 h u uljni macerat gospine trave i na ponovno ozračena na 10 minuta pod UV-zračenjem.



Slika 6 a) uzorci sjemenki pšenice u maceratima; b) uzorci pod UV lampom

Nakon što je sva pšenica prošla potrebne pripreme (zračenje i natapanje u uljnim maceratima) bila je posijana u čašice označene brojevima od 1 do 7. Zemlja koju smo koristili za sadnju sadrži treset, kompost, glinu i perlit. pH-vrijednost zemlje izmjerena je univerzalnim lakmus papirom i iznosila je između 5,5 i 6,9.

Posude sa pšenicom su se redovito zalijevale i pratilo se vrijeme potrebno za klijanje, brzina rasta mladica i izgled mladica. Na kraju eksperimenta izvagala se ukupna biomasa pšenice u pojedinoj

posudici i prebrojao se broj proklijanih sjemenki. Istraživanje se ponovilo dva puta radi dobivanja što točnijih rezultata.

Jednu skupinu pšenice uzgajali smo na prozoru kabineta biologije, a drugu skupinu na prozoru u kabinetu kemije (slika 7). Prozor kabineta biologije nalazi se na istočnoj strani škole, a prozor kabineta kemije na sjevernoj strani.

Temperatura u kabinetu biologije bila je 20 °C, a u kabinetu kemije 18 °C. Klijavost i dužinu izdanka pšenice pratili smo 10 dana.



Slika 7 Skupina 2 - posijana pšenica u kabinetu kemije

Prikupljanje podataka

Na početku eksperimenta izvagali smo po 2 grama sjemenki pšenice za svaki uzorak i prebrojali ih.

Nakon 10 dana kod svakog smo uzorka prebrojali broj izdanka pšenice i izračunali postotak iskljanih sjemenki prema formuli:

$$N(\text{isklijanih sjemenki pšenice}) = \frac{N(\text{izdanaka pšenice})}{N(\text{sjemenki pšenice na početku istraživanja})} 100 \%$$

Osim postotka iskljanih sjemenki pšenice odredili smo i biomasu pšenice u svakom uzorku. Iz zemlje smo izdvojili izdanke i neprokljane sjemenke i izvagali ih pomoću tehničke vage (slika 8).



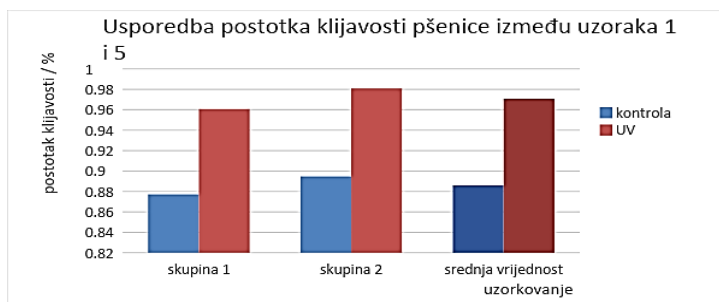
Slika 8 Mjerenje ukupne biomase jednog uzorka u ispitivanoj skupini

Srednju vrijednost biomase i postotka proklijalih sjemenki u uzorcima odredile smo prema formuli:

$$\bar{N} = \frac{N(\text{uzorak 1 iz prve skupine}) + N(\text{uzorak 1 iz druge skupine})}{2}$$

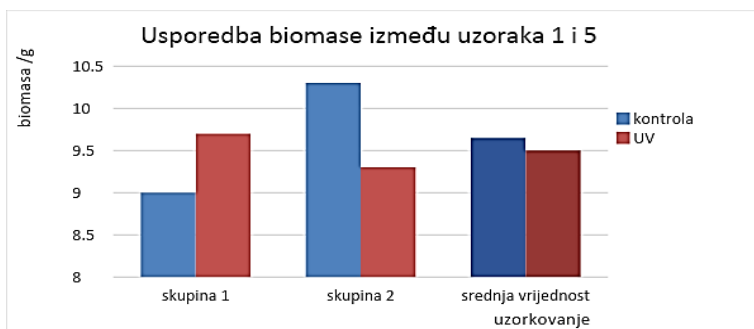
REZULTATI

Utjecaj UV-zračenja na klijavost pšenice možemo vidjeti na slici 9. Na njoj je prikazan postotak klijavosti sjemenki pšenice između kontrole (uzorak 1) i uzorka kod kojeg su sjemenke podvrgnute UV-zračenju (uzorak 5). Sjemenke pšenice izložene UV-zračenju proklijale su prije, a na slici možemo vidjeti i da su sjemenke pšenice izložene UV-zračenju proklijale u većem postotku.



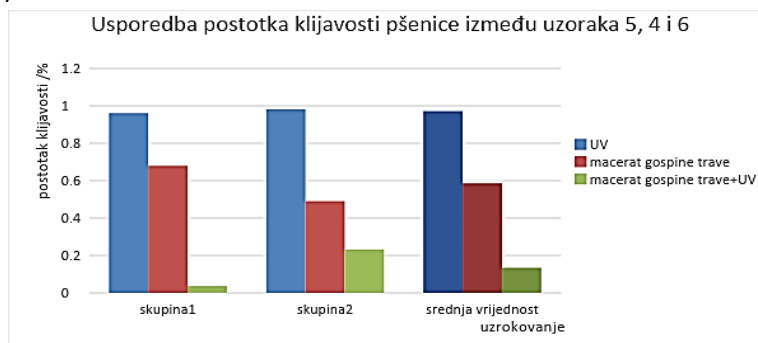
Slika 9 Usporedba postotka klijavosti sjemenki pšenice između kontrole (uzorak 1) i uzorka kod kojeg su sjemenke podvrgnute UV-zračenju (uzorak 5), na slici je prikazana usporedba klijavosti za eksperimentalnu skupinu 1 i skupinu 2 te srednje vrijednosti za ispitivane skupine

Na kraju pokusa izvagane su mase sjemenki i iskljanih izdanaka kod svih uzoraka. Na slici 10 prikazana je usporedba biomase kod kontrole (uzorak 1) i uzorka kod kojeg su sjemenke podvrgnute UV-zračenju. S grafa se može uočiti da je kod ispitivane skupine 1 veća biomasa pšenice bila kod pšenice podvrgnute UV-zračenju, dok je kod druge ispitivane skupine veću biomasu imala kontrola. Izračunamo li srednje vrijednosti između ova dva ispitivanja možemo primijetiti da kontrola i uzorak tretiran UV-zračenjem imaju približno jednake biomase.



Slika 10 Biomasa pšenice na kraju pokusa u dvjema ispitivanim skupinama i srednje vrijednosti za ispitivane skupine kod kontrole (uzorak 1) i uzorka kod kojeg su sjemenke podvrgnute UV-zračenju (uzorak 5)

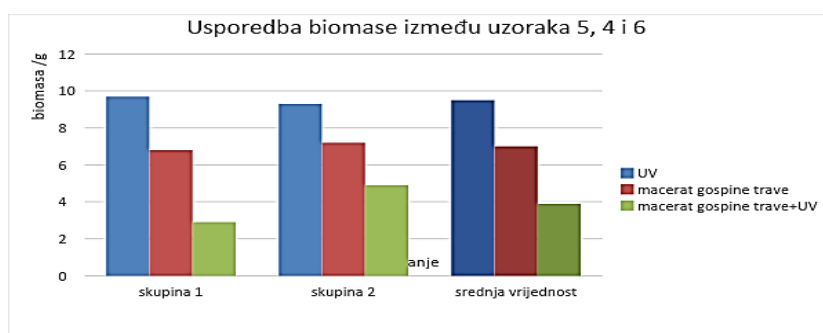
Utjecaj UV-zračenja i uljnog macerata gospine trave na klijavost pšenice možemo vidjeti na slici 11. Na njoj je prikazan postotak klijavosti sjemenki pšenice uzorka u kojemu su sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju (uzorak 5), uzorka kod kojeg su sjemenke tretirane maceratom gospine trave (uzorak 4) i uzorka kod kojeg su sjemenke pšenice tretirane maceratom gospine trave i zatim podvrgnute UV-zračenju (uzorak 6).



Slika 11 Usporedba postotka klijavosti sjemenki pšenice podvrgnutih UV-zračenju (uzorak 5), uzorka kod kojeg su sjemenke tretirane maceratom gospine trave (uzorak 4) i uzorka kod kojeg su sjemenke pšenice tretirane maceratom gospine trave a zatim podvrgnute UV-zračenju (uzorak 6), na slici je prikazana usporedba klijavosti za eksperimentalnu skupinu 1 i skupinu 2 te srednje vrijednosti za ispitivane skupine

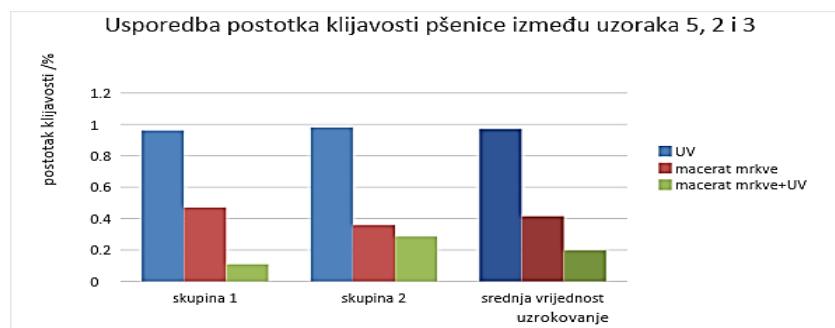
Sjemenke izložene samo UV-zračenju (uzorak 5) proklijale su u najvećem postotku. U najmanjem postotku proklijale su sjemenke pšenice tretirane maceratom gospine i zatim podvrgnute UV-zračenju (uzorak 6).

Usporedba rezultata dviju ispitivanih skupina i srednje vrijednosti s rezultatima uzoraka 5, 4 i 6 prikazano je na slici 12. U ispitivanoj skupini 1 najveća biomasa pšenice na kraju eksperimenta bila je kod pšenice podvrgnute UV-zračenju, a najmanja biomasa kod pšenice tretirane maceratom gospine trave a zatim podvrgnute UV-zračenju. U skupini 2 najveću biomasu imala je pšenica podvrgnuta UV-zračenju, a najmanju pšenica koje je tretirana maceratom gospine trave a zatim podvrgnuta UV-zračenju. Izračunamo li srednje vrijednosti možemo zaključiti da srednja vrijednost prati rezultate skupine 1 i skupine 2.



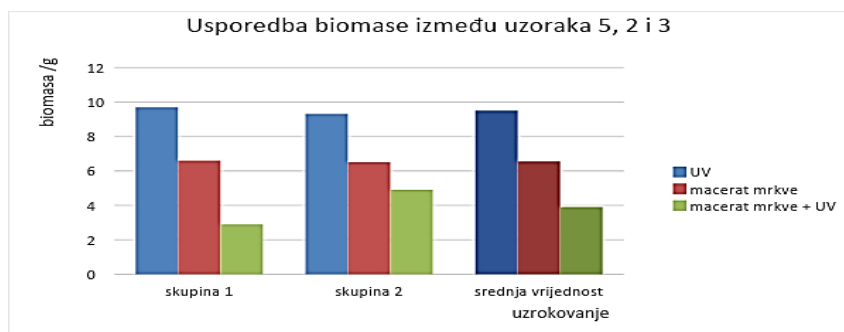
Slika 12 Biomase pšenice na kraju pokusa u dvjema ispitivanim skupinama i srednje vrijednosti za ispitivane skupine kod uzoraka 5 (pšenica podvrgnuta UV-zračenju), 4 (sjemenke tretirane maceratom gospine trave) i 6 (sjemenke pšenice tretirane maceratom gospine trave a zatim podvrgnute UV-zračenju)

Utjecaj UV-zračenja i macerata mrkve na klijavost pšenice između uzoraka 5, 2 i 3, možemo vidjeti na slici 13. Na njoj je prikazan postotak klijavosti uzorka u kojemu su sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju (uzorak 5), uzorka kod kojeg su sjemenke tretirane maceratom mrkve (uzorak 2) i uzorka kod kojeg su sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju a zatim tretirane maceratom mrkve (uzorak 3). Sjemenke izložene UV-zračenju (uzorak 5) proklijale su u najvećem postotku, a u najmanjem postotku proklijale su sjemenke pšenice koje su podvrgnute UV-zračenju a zatim tretirane maceratom mrkve (uzorak 3).



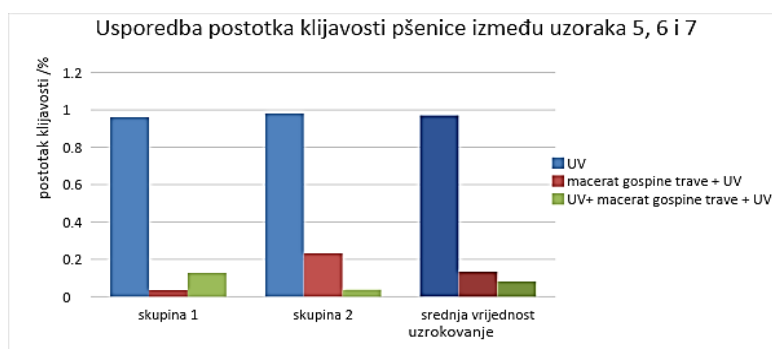
Slika 13 Usporedba postotka klijavosti između sjemenki pšenice podvrgnutih UV-zračenju (uzorak 5), uzorka kod kojeg su sjemenke tretirane maceratom mrkve (uzorak 2) i uzorka kod kojeg su sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju i zatim tretirane maceratom mrkve (uzorak 3). Na slici je prikazana usporedba klijavosti za eksperimentalnu skupinu 1 i skupinu 2 te srednje vrijednosti za ispitivane skupine

Usporedba rezultata dviju ispitivanih skupina i srednje vrijednosti s rezultatima uzoraka 5, 2 i 3 prikazano je na slici 14. U ispitivanoj skupini 1 najveća biomasa pšenice bila je kod pšenice podvrgnute UV-zračenju, a najmanja biomasa kod pšenice podvrgnute UV-zračenju a nakon toga tretirane maceratom mrkve. U skupini 2 najveću biomasu imala je pšenica podvrgnuta UV-zračenju, a najmanju biomasu imala je pšenica koja je podvrgnuta UV-zračenju i zatim tretirana maceratom mrkve. Izračunamo li srednje vrijednosti možemo zaključiti da srednja vrijednost prati rezultate skupine 1 i skupine 2.



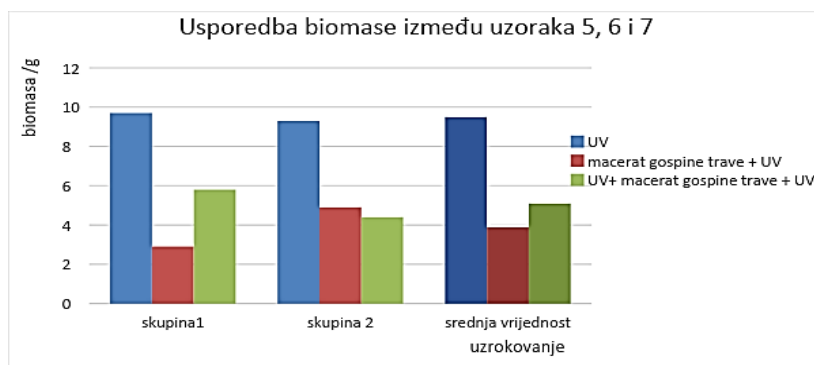
Slika 14 Usporedba biomasa pšenice na kraju pokusa u dvjema ispitivanim skupinama i srednje vrijednosti za ispitivane skupine između uzoraka 5 (pšenica podvrgnuta UV-zračenju), 2 (pšenica tretirana maceratom mrkve) i 3 (pšenica tretirana maceratom mrkve, a zatim podvrgnuta UV-zračenju)

Utjecaj fototoksičnog efekta macerata gospine trave na klijavost sjemenki pšenice možemo vidjeti na slici 15. Slika prikazuje usporedbu klijavosti pšenice između uzoraka 5, 6 i 7. Na njoj je prikazan postotak klijavosti sjemenki pšenice uzorka u kojemu su sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju (uzorak 5), uzorka kod kojeg su sjemenke pšenice tretirane maceratom gospine trave i zatim podvrgnute UV-zračenju (uzorak 6) i uzorka kod kojeg su sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju, tretirane maceratom gospine trave i zatim ponovno osvjetljenje UV-zračenjem (uzorak 7). Sjemenke izložene UV-zračenju (uzorak 5) proklijale su u najvećem postotku u obje skupine. U skupini 1 u najmanjem postotku proklijale su sjemenke pšenice tretirane gospinom travom koje su zatim podvrgnute UV-zračenju (uzorak 6). U skupini 2 u najmanjem postotku proklijale su sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju, tretirane maceratom gospine trave i zatim ponovno osvjetljenje UV-zračenjem (uzorak 7).



Slika 15 Usporedba postotka klijavosti sjemenki pšenice kod uzoraka 5 (sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju), 6 (sjemenke pšenice tretirane maceratom gospine trave i nakon podvrgnute UV-zračenju) i 7 (sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju nakon toga tretirane maceratom gospine trave i ponovno osvjetljenje UV-zračenjem); na slici je prikazana usporedba klijavosti za eksperimentalnu skupinu 1 i skupinu 2 te srednje vrijednosti za ispitivane skupine

Utjecaj fototoksičnog efekta macerata gospine trave na biomase uzorka prikazan je usporedbom između uzoraka 5, 6 i 7 na slici 16. Kod obje eksperimentalne skupine najveću biomasu ima pšenica podvrgnuta samo UV-zračenju. U skupini 1 najmanju biomasu ima pšenica tretirana maceratom gospine trave i zatim podvrgnuta UV-zračenju. U skupini 2 najmanju biomasu ima pšenica podvrgnuta UV-zračenju i zatim tretirana maceratom gospine trave i ponovno osvjetljena UV-zračenjem. Izračunamo li srednje vrijednosti možemo zaključiti da najveću biomasu ima uzorak 5 a najmanju uzorak 6.



Slika 16 Usporedba biomase pšenice na kraju pokusa u dvjema ispitivanim skupinama i srednje vrijednosti za ispitivane skupine uzoraka 5 (sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju), 6 (sjemenke pšenice tretirane maceratom gospine trave i nakon podvrgnute UV-zračenju) i 7 (sjemenke pšenice podvrgnute UV-zračenju nakon toga tretirane maceratom gospine trave i ponovno osvjetljenje UV-zračenjem)

RASPRAVA

U ovom istraživanju ispitivano je djelovanje UV-zračenja i uljnih biljnih macerata na klijavost sjemenki i ukupnu biomasu pšenice. Korišteni uljni macerati u istraživanju bili su macerat mrkve i macerat gospine trave. Ispitivala se i fototoksičnost macerata gospine trave. Pretpostavka istraživanja da UV-zračenje negativno utječe na klijavost sjemenki pšenice pokazala se netočnom kao i pretpostavka da će biljni macerati ublažiti utjecaj UV-zračenja.

Ovi rezultati mogu se usporediti i s podacima sa stranice *Vodič za roditelje* gdje se navodi kako biljke uspješnije rastu u blizini uređaja koji odašilju elektromagnetsko zračenje (Bošnjak, 2014.). Rezultati rada učenica Bosančić i Prosenečki, čija je tema rada bila utjecaj elektromagnetskog zračenja mobitela i računala na klijavost i rast pšenice, pokazuju da elektromagnetsko zračenje računala i mobitela pospješuje klijavost i rast pšenice. Najzdravije i najviše biljke su one koje su bile podvrgnute zračenju uređaja uz računalo, slijede potom biljke izložene zračenju mobitela, a najniže rastom bile su neozračene biljke. Na biljkama nisu uočene neuobičajene promjene 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 (Bosančić i sur., 2015.). Rezultati našeg rada poklapaju se s rezultatima rada Bosančić i Prosenečki jer pokazuju da UV-zračenje pospješuje klijavost i rast izdanaka pšenice.

U radu Hopkinsa i sur. (2002) primarni list pšenice korišten je kao predmet ispitivanja za dokazivanje kako UV-B zrake utječu na rast pšenice. Uslijed djelovanja UV-B zračenja došlo je do promjena u procesu mitoze jer se umanjuje udio mitotički aktivnih stanica i vrijeme udvostručenja stanica. Tako je opskrba stanica u zoni elongacije smanjena i to, povezano sa smanjenjem brzine rastezanja rezultiralo



je smanjenu rasta lišća. Stanice koje su bile tretirane UV-B zračenjem stare brže od onih iz kontrolne skupine, dok naši rezultati pokazuju da UV-zračenje pospješuje klijavost i ukupnu biomasu sjemenki pšenice.

U radu Borzouei i sur. iz 2010. ispitivao se utjecaj γ -zračenja na klijavost sjemenki i izgled izdanka pšenice. Rezultati rada pokazali su da γ -zračenje negativno utječe na klijavost i izgled izdanka pšenice, ali postotak konačne klijavosti nije pokazao značajan utjecaj povećanja količine zračenja. Usporedimo li učinke djelovanja γ -zračenja i UV-zračenja možemo primjetiti da se oni u potpunosti razlikuju. To možemo objasniti razlikom u valnim duljinama zračenja. γ -zračenje čine elektromagnetski valovi valnih duljina kraćih od 10 pikometara (1 pikometar = $1 \cdot 10^{-12}$ metara), dok UV-zračenje čine elektromagnetski valovi valnih duljina od približno 10 do 400 nm (1 nanometar = $1 \cdot 10^{-9}$ metara). To znači da zračenja kraće valne duljine negativno utječu na sjemenke pšenice.

U radu Siddiquia i sur. iz 2009. ispitivao se alelopatski efekt na sjemenke pšenice koje su bile tretirane ekstraktom lista *Prosopis juliflora*. Ekstrakt je uzrokovao izražen inhibitorni učinak na klijavost sjemenki pšenice i duljinu korijena. Ti se rezultati podudaraju s djelovanjem uljnih macerata u našem radu koji su također pokazali inhibitorni učinak na klijavost sjemenki i ukupnu biomasu pšenice.

Učenici naše škole Tomeković i Pavošević (2000.) istraživali su kako X-zračenje (10 – 0,01 nm), kisele i lužnate otopine i ultrazvuk (frekvencija > 20 000 Hz) utječu na razvoj izdanka pšenice. Njihovi rezultati se podudaraju s našima, odnosno najbolje su proklijale sjemenke ozračene X-zrakama i ultrazvukom.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja može se zaključiti:

- ✱ UV-zračenje pozitivno utječe na klijavost sjemenki pšenice.
- ✱ Macerat gospine trave i macerat mrkve negativno utječu na klijanje sjemenki pšenice.
- ✱ Djelovanje biljnih uljnih macerata i UV-zračenja smanjuje klijavost sjemenki u većoj mjeri nego sami macerati.
- ✱ Macerat gospine trave i macerat mrkve pokazuje negativan utjecaj zato što je konačna biomasa nakon klijanja manja usporedno s kontrolnom skupinom.
- ✱ Djelovanje biljnih uljnih macerata i UV-zračenja smanjuje konačnu biomasu nakon klijanja u većoj mjeri nego sami macerati.
- ✱ Prema rezultatima istraživanja ne možemo s dovoljnom sigurnošću potvrditi fototoksičnost macerata gospine trave na klijavost sjemenki pšenice i konačnu biomasu pšenice.
- ✱ Temperatura zraka pri kojoj je klijala i rasla pšenica nije značajno utjecala na klijavost i biomasu pšenice.

LITERATURA

- Borzouei i sur., 2010. Effects of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. Pakistan Journal of Botany 42(4): 2281-2290
- Bosančić I. i Prosenečki I. 2015. Utjecaj elektromagnetskog zračenja mobitela i računala na klijavost i rast pšenice. časopis učeničkih istraživanja iz biologije Bioznanac 1: 104-113
- 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.
- Čajkovac M., 2000. Kozmetologija. Naklada Slap, Jastrebarsko.



- Halepović - Đečević E., Kaliterna D., 2012. Primijenjena kemija - udžbenik za kozmetičare. Medicinska naklada, Zagreb.
- Hopkins i sur., 2002. Ultraviolet-B radiation reduces the rates of cell division and elongation in the primary leaf of wheat (*Triticum aestivum* L. cv Maris Huntsman). *Plant, Cell and Environment*, Volume 25: 617–624
- Marković S., 2005. Fitoaromaterapija: monografije esencijalnih ulja i ljekovitih biljaka temelji fitoaromaterapije. Centar cedrus, Zagreb.
- Siddiquia i sur., 2009. Allelopathic Effect of Different Concentration of Water Extract of *Prosopis juliflora* Leaf on Seed Germination and Radicle Length of Wheat. *American-Eurasian Journal of Scientific Research* 4 (2): 81-84
- Širanović Š., 2015. Načini obrade tla za ozimu pšenicu. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
- Tomeković M. i Pavošević F., 2000. Utjecaj zračenja i pH na razvitak biljaka. Plakat s Državnog natjecanja iz biologije

PERIFERNI VID: POGLED IZ DRUGE PERSPEKTIVE

Laura Busak, 3. razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: Petra Međeral Ozimec

SAŽETAK

Periferni vid jest krajnje područje vidnog polja. Periferni dio mrežnice oka ima karakteristično nisku koncentraciju fotoreceptora u odnosu na prostor u blizini žute pjege, zbog čega igra sporednu ulogu u svakodnevnom procesu vidne percepcije. Cilj ovog istraživanja jest otkriti okvir mogućnosti perifernog vidnog područja u odnosu na centralno vidno područje te ima li razlika u vidnim sposobnostima među spolovima. Ispitivanje je provedeno na 100 ispitanika kod kojih je ispitana točnost percepcije riječi, boja, slova i brojki te geometrijskih oblika u perifernom području. Statističkom analizom prikupljenih podataka (Wilcoxonov test) zaključeno je da postoji značajna razlika između preciznosti promatranja bližim odnosno daljim perifernim vidom. Ustanovljeno je da se subjektivni doživljaj zahtjevnosti korištenja perifernog vida umjesto centralnog poklapa s preciznošću dobivenih informacija. Također je zaključeno da muške osobe u usporedbi sa ženskim osobama uglavnom imaju veću sposobnost raspoznavanja predmeta rubnim područjem vidnog polja.

Ključne riječi: rubno vidno područje, oko, vidno polje, percepcija

UVOD

Vid je često smatran najbitnijim ljudskim osjetilom, među ostalim zato što omogućava prepoznavanje opasnosti bez izravnog izlaganja istima, kao što bi bio slučaj s osjetilom okusa. Čovjek zdravog vida ima sposobnost raspoznavanja jačine svjetlosti, boja, oblika i ostalih karakteristika predmeta gledanja. Budući da olakšava preživljavanje i pronalaženje partnera, jasan je i evolucijski značaj vida (Đumlija i sur., 2015). Također se često spominje u kontekstu podjele rada u prvotnim zajednicama, gdje se različite društvene uloge muškaraca (lov) i žena (sakupljanje hrane) koriste kao potencijalna objašnjenja današnjih razlika u vidnim sposobnostima među spolovima, osobito kad je u pitanju prepoznavanje boja (Bird, 1999).

Oko je organ odgovoran za primanje svjetlosnih podražaja. Interpretacija primljenih podražaja odvija se u mozgu, no kvaliteta obrade direktno je povezana s kvalitetom primljenih informacija. Unutar oka nalaze se tri ovojnice, a slika se formira na mrežnici. Mrežnica prikuplja svjetlosne podražaje dvjema vrstama receptora – čunjićima, receptorima za boju, i štapićima, receptorima za jačinu svjetlosti. Čunjići se javljaju u tri različita tipa koji se aktiviraju kontaktom sa elektromagnetskim valom koji odgovara jednoj od tri osnovne boje ljudskog vida: modra (B), zelena (G) i crvena (R) (Guyton i Hall, 1999). Koncentracija čunjića najveća je na udubini žute pjege (makule) koja se naziva fovea. Koncentracija štapića ravnomjernija je na čitavom području mrežnice, no ipak dostiže najvišu vrijednost u neposrednoj blizini makule. Svjetlosni podražaji koji padaju izravno na makularno područje mrežnice čine središnji vid, koji je upravo zbog velikog broja čunjića najosjetljiviji i daje najtočnije slike. Međutim, centralni vid obuhvaća tek do 18 stupnjeva vidnog polja; ostatak se naziva perifernim vidom (Strasburger i sur., 2011).

Periferni vid koristan je i važan element osjetila vida jer omogućava pregled velikog dijela okruženja. U moderno doba dobiva novi značaj zbog pojave automobilske prometne, u kojem je nužno promatrati što je veći mogući dio okruženja. Neki ga također ističu zbog rastuće stope javljanja makularne degeneracije, glavnog uzroka gubitka centralnog vida, u razvijenom svijetu jer se oni zahvaćeni njome moraju oslanjati na periferiju vidnog polja (Evans i Wormald, 1996). Periferni se vid dijeli na bliži (9 do



60 stupnjeva) i dalji (60 do 90 stupnjeva) (Strasburger i sur., 2011). Koncentracija štapića najveća je na području bližeg perifernog vida i znatno pada u daljnjem. Koncentracija čunjića vrlo je mala na čitavom perifernom području vidnog polja. Perifernom vidnom području pripada i slijepa pjega, mjesto spajanja optičkog živca s mrežnicom, na kojoj nema fotoreceptora. Otklonjena je otprilike $12,5^\circ$ od makule i jedino je područje na kojem oko ne prima nikakav svjetlosni podražaj, što se nadomješta mozgovnom obradom (Guyton i Hall, 1999).

Na temelju činjenica o raspodjeli receptora na mrežnici i podjeli vidnog polja na centralni i periferni (Strasburger i sur., 2011), može se zapitati kolike su razlike između bližeg i daljnjeg perifernog vida te koje su granice mogućnosti perifernog vida u ljudi. Cilj ovog istraživanja jest usporediti sposobnost i zahtjevnost raspoznavanja riječi, boja, slova i brojki te geometrijskih oblika u području bližeg i daljnjeg perifernog vida te ustanoviti razlikuju li se iste među spolovima. Hipoteza glasi da će periferni vid biti najprecizniji u bližem perifernom vidnom području zbog veće koncentracije fotoreceptora i kod ženskih ispitanika zbog društvenih spoznaja o ulogama u prvotnim zajednicama, da će promatranje bližim perifernim vidom biti ocijenjeno kao lakše te da će najteže biti čitanje, a najlakše raspoznavanje boja.

METODE RADA

Istraživanje je provedeno na 100 učenika srednje škole, 16 do 18 godina starosti. Pri ispitivanju su zabilježeni poremećaji vida (miopija, hipermetropija, astigmatizam, daltonizam i sl.), zbog čega su svi ispitanici ispunili obrazac sa svojim podacima u kojem su uza spol i dob naveli i sve poremećaje kojima im je zahvaćen vid. Ispitivanje se provodilo individualno i bez podjele u skupine.

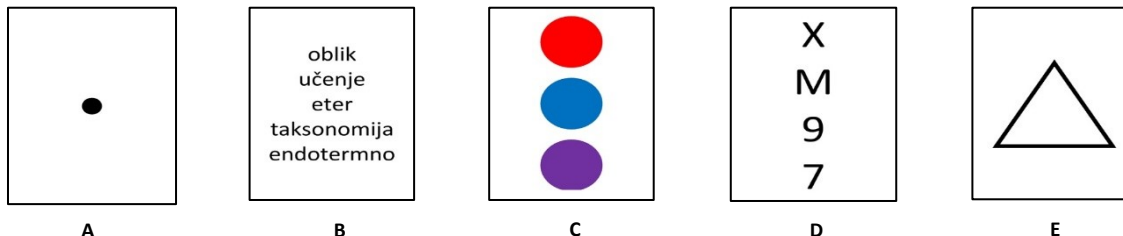
Tijek ispitivanja

Dizajn kartica s elementima za promatranje

Predmet gledanja ispisan je na papiru A4 formata i sadržavao je samo one elemente koji se ispituju u danom trenutku (boje, slova i brojke, oblici ili riječi), kao što je prikazano na slici 1. Dodatan predmet gledanja jest kartica s točkom u sredini (slika 1.A) za određivanje dominantnog oka ispitanika, odnosno za referentnu točku u koju ispitanik treba gledati tijekom ispitivanja.

Za svaku je skupinu zadataka (riječi, boje, slova i brojke, oblici) napravljeno po tri različite kartice koje su služile kao predmet gledanja tijekom eksperimenta. Za skupinu zadataka *Riječi* kartice su se sastojale od pet riječi različitih duljina (broja znakova) i učestalosti u svakodnevnom jeziku (slika 1.B). Tako je minimizirana mogućnost nasumičnog pogađanja pri odgovaranju te otežano čitanje brzim ili nesvjesnim okretanjem pogleda prema predmetu gledanja. Kartice skupine zadataka *Boje* sastojale su se od tri kruga različitih boja, od kojih je barem jedna odgovarala jednom od osnovnih fotoreceptora u ljudskom oku (crveno, zeleno, modro) (slika 1.C). Krug je odabran jer je jedini geometrijski lik čije su sve točke sadržane unutar jedne udaljenosti, što je poželjno kako boja ne bi zauzimala preširok dio vidnog polja. Za skupinu zadataka *Slova i brojke* kartice su se sastojale od četiri znaka (dva slova i dvije brojke) ispisan jedan ispod drugog (slika 1.D). Odabrani znakovi bili su upečatljivi kako bi se olakšalo prepoznavanje (npr. nisu odabrana slova Č ili Ć). Za posljednju skupinu zadataka, *Oblici*, na karticama se nalazio jedan pravilni geometrijski lik (slika 1.E). Kontrast s pozadinom ostvaren je upotrebom crne boje i debele konture.

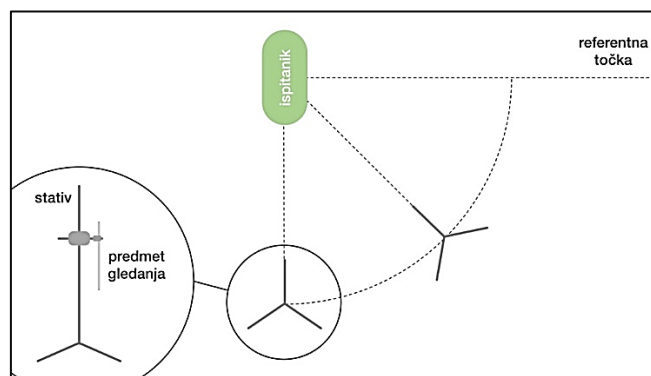
Različit broj elemenata na kartici u skladu je s predviđenom zahtjevnošću zadatka jer je pretpostavljeno da će kod težih zadataka ispitanici imati veći poriv okrenuti pogled prema kartici.



Slika 1 Primjeri kartica korištenih u eksperimentu: referentna točka (A), riječi (B), boje (C), slova i brojeke (D) i geometrijski oblik (E)

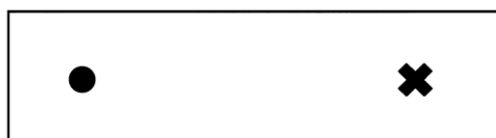
Provedba eksperimenta

Za podatke o bližem perifernom vidu predmet gledanja postavljen je pod 45° u odnosu na ispitanika, a za dalji pod 90°. Ovaj odabir najbolje omogućava ispitivanje obaju područja bez znatnog dodira sa slijepom pjegom.



Slika 2 Ilustracija postava korištenog u eksperimentu

Ispitanici su bili u sjedećem položaju, izravnatog vrata i čeljusti paralelne s tlom. Predmet gledanja učvršćen je na stativ pod odgovarajućim kutom tako da je središte papira u ravnini s očima ispitanika. Položaji stativa s predmetom gledanja pod 45° odnosno 90° u odnosu na ispitanika označeni su na stolu na kojem je stajao i ostali su konstantni za sve ispitanike, kao i položaj stolice na kojoj su sjedili. Kao dodatna mjera opreza od ispitanika se tražilo da pomoću uobičajene metode za pronalaženje slijepe pjege (slika 3) (Serendip, 2017) odrede gdje se nalazi dok gledaju ravno te je osigurano da položaj predmeta gledanja nikad nije na pravcu slijepe pjege.



Slika 3 Test za samostalno pronalaženje slijepe pjege.

Budući da je dovoljno ispitati samo jedno oko kod svih ispitanika kojima su oba oka zdrava, strana kojom je ispitanik promatrao predmet gledanja odabrana je prema njegovu dominantnom oku (Chaurasia i Mathur, 1976). Zbog toga je potrebno prvo odrediti koje je ispitanikovo oko dominantno. Ispitanik bi prstima lijeve i desne ruke napravio trokut kojim je uokvirio predmet postavljen izravno ispred sebe te bi naizmjenice zatvarao lijevo pa desno oko. Oko koje je bilo zatvoreno kad su percipirali



veći pomak predmeta u odnosu na okvir jest dominantno oko. Ukoliko ispitanik ima ozbiljnijih problema s vidom, potrebno je to uzeti u obzir kako poremećaj ne bi negativno utjecao na njegove odgovore. Zbog toga se od svih ispitanika tražilo da navedu bilo kakav poremećaj vida koji im je dijagnosticiran. Od kratkovidnih i dalekovidnih ispitanika zahtijevalo se da sa sobom imaju naočale ili kontaktne leće te se dodatno provjeravalo mogu li s predodređene udaljenosti pročitati tekst kod ispitivanja vidljivosti riječi. Za ispitanike s daltonizmom predviđeno je preskočiti ispitivanje prepoznavanja boja. Kod ispitanika s ostalim poremećajima vida (astigmatizam, strabizam) također je unaprijed provjerena kvaliteta centralnog vida. Ako poremećaj ne zahvaća oba oka, prioritet ima zdravo oko.

Osigurani su podjednaki uvjeti u okolini ispitanika. Osvjetljenje je bilo konstantno tijekom trajanja ispitivanja te je dolazilo iz istog smjera za sve ispitanike. Izvor svjetlosti direktno je osvjetljavao predmet gledanja. Zatvaranjem prozora i vrata te ispitivanjem na individualnoj bazi eliminirani su potencijalno ometajući faktori. Provoditelj ispitivanja nosio je kontrastnu odjeću (crne boje) kako ne bi došlo do interferencije s predmetom gledanja. Vrijeme dana bilo je ograničeno unutar okvira uobičajenog nastavnog dana (između 8 i 20 sati). Točno vrijeme nije bilo identično za svakog ispitanika zbog praktičnosti, pristupa umjetnom osvjetljenju koje omogućava održavanje osvjetljenja neovisno o vanjskom svjetlu te faktora na koje se ne može utjecati, a mogli bi prouzročiti povećan umor očiju (količina i kvaliteta sna, dugotrajno čitanje, korištenje računala itd.).

Ispitanici su imali zadatak gledati u točku postavljenu ispred njih te identificirati odgovarajuće elemente (riječi, boje, slova i brojke, oblike) na predmetu gledanja pod odgovarajućim kutom. Točnim su se smatrali samo oni odgovori kojima je precizno i potpuno određen element u pitanju (npr. crvena je jedini prihvatljivi odgovor ako je element crvene boje te se slične boje kao što su narančasta ili ružičasta nisu priznavale).

Po završetku ispitivanja svaki je ispitanik trebao ispuniti upitnik o zahtjevnosti zadataka (tablica 1) tako svakom pojedinom zadatku dodijeli ocjenu između 1 i 5, gdje 5 predstavlja najvišu razinu zahtjevnosti (tablica 1).

Tablica 1 Primjer upitnika o zahtjevnosti zadataka iz eksperimenta

Br.	Riječi		Boje		Slova i brojke		Oblici	
	90° (dalje)	45° (bliže)	90° (dalje)	45° (bliže)	90° (dalje)	45° (bliže)	90° (dalje)	45° (bliže)
1								

Analiza podataka

Prikupljeni podatci obrađeni su u SPSS-u, programu za statističku obradu podataka. Normalitet distribucije prikupljenih podataka provjeren je Kolmogorov-Smirnovljevim testom i ustanovljeno je da se njihova distribucija statistički značajno razlikuje od normalne ($p < 0,05$) te je za nastavak obrade upotrijebljen Wilcoxonov test.

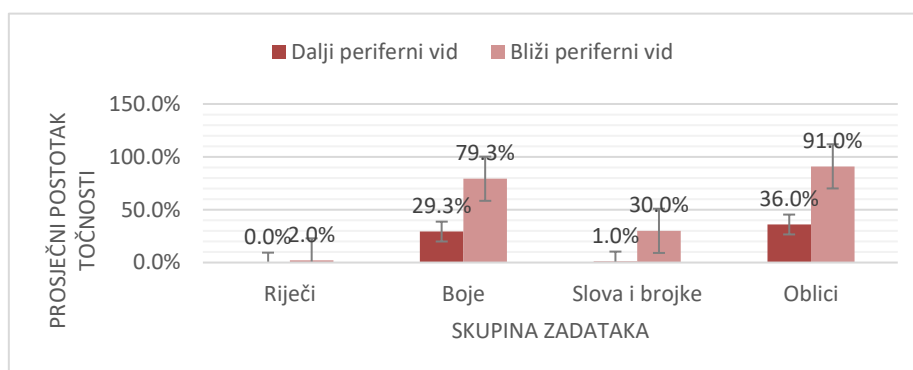
Uspoređivana je točnost odgovora u svakoj pojedinoj skupini elemenata (riječi, boje, slova i brojke, oblici) kod promatranja daljim i bližim perifernim vidom. Jednako su tako uspoređivane ocjene zahtjevnosti iz upitnika. Dodatno su uspoređivane srednje vrijednosti rezultata (točnosti prepoznavanja i ocjene zahtjevnosti) muških i ženskih ispitanika.

REZULTATI

Za svaku je skupinu zadataka (riječi, boje, slova i brojke, oblici u području daljnjeg odnosno bližeg perifernog vida) izračunat prosjek točnosti odgovora za sve ispitanike (slika 4). Wilcoxonovim testom utvrđena je statistički značajna razlika točnosti kod daljnjeg i bližeg perifernog vida za sve skupine zadataka ($p < 0,05$) (tablica 2).

Tablica 2 Rezultati Wilcoxonova testa provedenog nad rezultatima eksperimenta

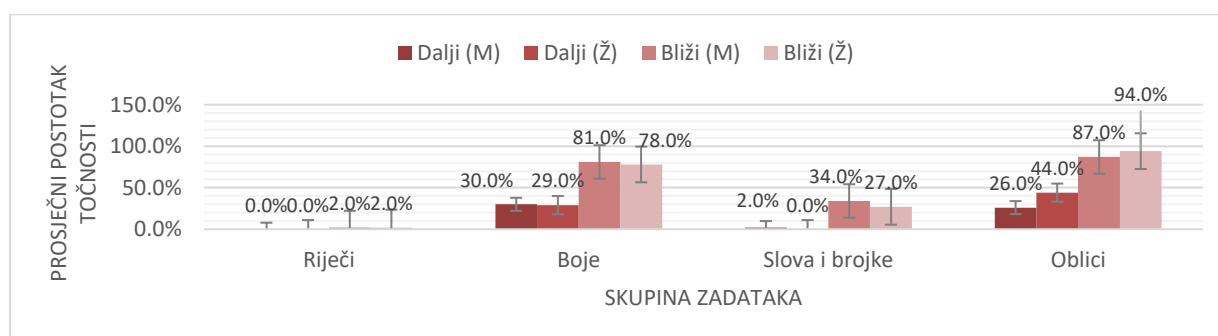
Uspoređivane skupine rezultata		Značajnost razlike
Riječi	Dalji periferni vid (90°)	0,023
	Bliži periferni vid (45°)	
Boje	Dalji periferni vid (90°)	0,000
	Bliži periferni vid (45°)	
Slova i brojke	Dalji periferni vid (90°)	0,000
	Bliži periferni vid (45°)	
Oblici	Dalji periferni vid (90°)	0,000
	Bliži periferni vid (45°)	



Slika 4 Prosječne vrijednosti točnosti odgovora ispitanika za područja daljeg i bližeg perifernog vida

Odnos među spolovima

Izračunate srednje vrijednosti točnosti odgovora muških i ženskih ispitanika prikazane su na slici 5.



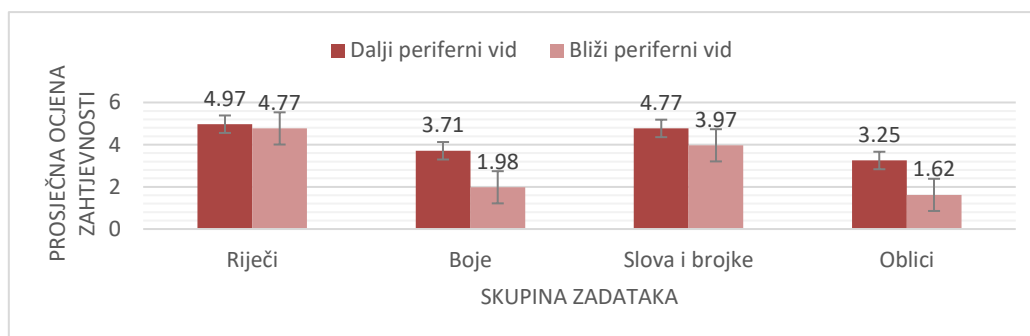
Slika 5 Prosječne vrijednosti točnosti odgovora za područja daljeg i bližeg perifernog vida. Slova u zagradi na legendi označavaju na koju se skupinu ispitanika prema spolu odnosi stupac (M – muško, Ž – žensko).

Upitnik o zahtjevnosti eksperimenta

Izračunate su prosječne ocjene zahtjevnosti za svaku skupinu zadataka (riječi, boje, slova i brojke, oblici u području daljnjeg odnosno bližeg perifernog vida) (slika 6) i uspoređene Wilcoxonovim testom, čime je određena statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u ocjenama kod daljnjeg i bližeg perifernog vida za sve skupine zadataka (tablica 3).

Tablica 3 Rezultati Wilcoxonova testa provedenog nad ocjenama zahtjevnosti iz upitnika

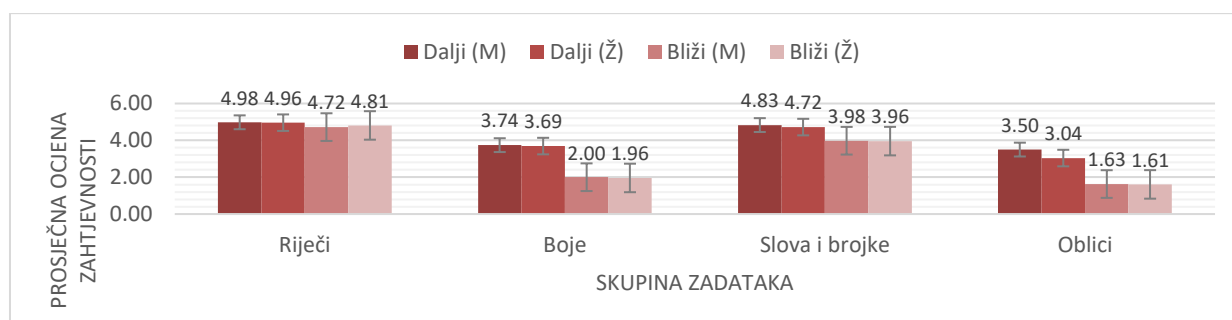
Uspoređivane skupine ocjena zahtjevnosti		Značajnost razlike
Riječi	Dalji periferni vid (90°)	0,001
	Bliži periferni vid (45°)	
Boje	Dalji periferni vid (90°)	0,000
	Bliži periferni vid (45°)	
Slova i brojke	Dalji periferni vid (90°)	0,000
	Bliži periferni vid (45°)	
Oblici	Dalji periferni vid (90°)	0,000



Slika 6 Prosječne ocjene zahtjevnosti svih zadataka iz eksperimenta

Odnos među spolovima

Izračunate srednje vrijednosti ocjena zahtjevnosti muških i ženskih ispitanika za područja daljeg i bližeg perifernog vida prikazane su na slici 7.



Slika 7 Prosječne ocjene zahtjevnosti za područja daljeg i bližeg perifernog vida. Slova u zagradi na legendi označavaju na koju se skupinu ispitanika prema spolu odnosi stupac (M – muško, Ž – žensko)

RASPRAVA

Bliži periferni vid pokazao se izoštrenijim od daljeg perifernog vida, odnosno njime se jasnije mogu raspoznati predmeti u vidnom polju. U svim provjerenim skupinama elemenata (riječi, boje, slova i brojke, oblici) ispitanici su preciznije mogli odrediti predmet bližim perifernim vidom, što potvrđuje izvornu pretpostavku o većoj preciznosti bližeg perifernog vida u odnosu na dalji. Razlog tome je veća koncentracija fotoreceptora na perifernom dijelu mrežnice bliže makuli.

Kao što je prikazano na slici 4, najviše je ispitanika točno prepoznalo bližim perifernim vidom oblike (91,0%), kao i daljim (36,0%). Najmanje ispitanika je uspjelo raspoznati riječi i u bližem (2,0%) i u daljem (0,0%) perifernom vidnom području. Većina stručnjaka smatra da centralni vid ima glavnu ulogu u čitanju te da ono zahtijeva previše preciznih informacija da bi bilo izvedivo isključivo periferno (AOA, 2018), što se poklapa s rezultatima ovog istraživanja. Ipak, uloga perifernog vida u čitanju nije zanemariva, a istraživana je još u ranom 20. stoljeću. Budući da brzo čitanje podrazumijeva čitanje riječi



kao cjelina, a ne kao pojedinačnih slova, rano je zaključeno da percipiranje riječi mora uključivati i periferno vidno područje blisko makuli (Strasburger i sur., 2011). Raspoznavanje slova stoga je ispitano u perifernom vidnom području kako bi se otkrilo među kojim slovima i slogovima najčešće dolazi do pogrešnog raspoznavanja. Ispitana je uloga perifernog vida u disleksiji, a i općenito u čitanju, čime je potvrđeno da ipak ima važnu ulogu (Korte, 1923).

Subjektivni doživljaj zahtjevnosti zadataka također je značajno različit za dalji i bliži periferni vid te se poklapa s uspješnosti u odgovorima – usporedimo li prosječnu točnost i prosječnu ocjenu za svaku skupinu zadataka, možemo vidjeti da su ispitanici smatrali da su najzahtjevniji upravo oni zadatci u kojima su pokazali najnižu razinu preciznosti pri odgovaranju. Međutim, hipoteza da će prepoznavanje boja biti smatrano najlakšim nije potvrđena, već je prepoznavanje oblika bilo ocijenjeno kao najmanje zahtjevno.

Primjetno je da je rezultate ispitanika moguće svrstati u dvije skupine prema razini točnosti i ocjenama zahtjevnosti – boje i oblike kao skupinu zadataka s višom razinom točnosti odgovora i nižim ocjenama zahtjevnosti, a riječi te slova i brojke kao skupinu s manje točnih odgovora i višim ocjenama zahtjevnosti. To bi se moglo objasniti manjom varijabilnošću predmeta promatranja, čime je viša vjerojatnost pogađanja točnog odgovora, ali i razlikom između vrsta promatranih predmeta između tih dviju skupina. Boje i oblici su elementi koje uglavnom doživljavamo vizualno, konkretni su i svakodnevni. S druge strane, riječi, slova i brojke su apstraktni koncepti uže vezani za jezik i logičko razmišljanje.

Što se tiče odnosa među spolovima, izvorna hipoteza o većoj uspješnosti ženskih ispitanika nije potvrđena. Naime, muški ispitanici u svim skupinama zadataka osim prepoznavanja riječi (gdje su obje skupine postigle iste prosječne rezultate) i oblika (gdje su muški ispitanici postigli lošije rezultate) u prosjeku su postigli bolje rezultate i u daljnjem i u bližem perifernom području (slika 5). Pretpostavljam da je tome i dalje tako zbog različitih društvenih uloga muškaraca i žena u prvotnim zajednicama (Bird, 1999). Za bolje uspjehe u tipičnoj ulozi lovca pogodio bi im napredan periferni vid radi veće preglednosti okoline.

Zanimljivo je da su prosječne ocjene zahtjevnosti uglavnom niže kod ženskih ispitanika, iako su njihovi odgovori u prosjeku manje točni.

Ubuduće bi bilo poželjno imati bolju kontrolu nad uvjetima, osobito osvjetljenjem, tijekom ispitivanja. Također bi bilo dobro ponoviti eksperiment s većim kontrastom pozadine, što se također može postići boljom kontrolom osvjetljenja. Pretpostavljenu evolucijsku poveznicu lovačko-sakupljačkog načina života i boljeg perifernog vida moglo bi se dodatno podržati ispitivanjem osjetljivosti na pokret ili promjenu u perifernom vidnom području.

ZAKLJUČCI

Provedeno istraživanje omogućilo je donošenje slijedećih zaključaka:

- ✱ Bliži periferni vid pokazao se preciznijim nego dalji periferni vid.
- ✱ Promatranje daljim perifernim vidom ocijenjeno je težim od promatranja bližim perifernim vidom.



- * Čitanje se ispostavilo prezahtjevnim za periferni vid. Najbolji je u raspoznavanju boja i jednostavnih oblika.
- * Izvorna pretpostavka o naprednom perifernom vidu u osoba ženskog spola nije potvrđena – muški su ispitanici u prosjeku točnije identificirali predstavljene predmete od ženskih ispitanika.

LITERATURA

- AOA 2018. A Look at Reading and Vision. American Optometric Association. <https://www.aoa.org/patients-and-public/resources-for-teachers/a-look-at-reading-and-vision>, pristupljeno 2.3.2018.
- Bird R. 1999. Cooperation and conflict: The behavioral ecology of the sexual division of labor. *Evolutionary Anthropology* 8: 65–75.
- Chaurasia B. D., Mathur B. B. L. 1976. Eyedness. *Cells Tissues Organs* 96: 301-305.
- Đumlija S., Heffer M., Drenjančević I. 2015. Osjet i osjetila, U Novoselić D. (ur.), *Biologija 3: Fiziologija čovjeka*. Alfa, Zagreb, str. 133-137.
- Evans J., Wormald R. 1996. Is the incidence of registrable age-related macular degeneration increasing? *The British Journal of Ophthalmology* 80: 9-14.
- Guyton A. C., Hall J. E. 1999. Oko: I. Optika vida, Oko: II. Receptorska i živčana funkcija mrežnice, Oko: III. Neurofiziologija vida, U Kukulja Taradi S., Andreis I. (ur.), *Biologija 3: Fiziologija čovjeka*. Medicinska naklada, Zagreb, str. 543-576.
- Strasburger H., Rentschler I., Jüttner M. 2011. Peripheral vision and pattern recognition: A review. *Journal of Vision* 11: 13.
- Korte W. 1923. Über die Gestaltauffassung im indirekten Sehen. *Zeitschrift für Psychologie* 93: 17–82.
- Serendip. 2017. Blind spots: Seeing more than your eye does. Serendip Studio. <http://serendip.brynmawr.edu/bb/blindspot1.html>, pristupljeno 23.2.2018.

BENTOSKE BIOCENOZE U PODMORJU OTOČIĆA GALEVCA U ZADARSKOM ARHIPELAGU

Krševan Medić, 3. razred
Olivia Ivanka Jurković, 3. razred

Gimnazija Vladimira Nazora, Zadar

Mentor: Marija Nižić

SAŽETAK

Kartiranje bentoskih zajednica predstavlja osnovni korak u procesu istraživanja i zaštite određenih morskih područja. Jadransko more je plitko i većina njegovog dna pripada litoralnom (obalnom) području koje se dijeli na četiri stepenice: supralitoral, mediolitoral, infralitoral i cirkalitoral. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi koje su zajednice i vrste organizama prisutne oko otočića Galevca u zadarskom arhipelagu. Kartiranje bentoskih zajednica u ovom istraživanju obuhvatilo je supralitoral, mediolitoral i plitki infralitoral (do 3,7 m dubine). Istraživane su četiri postaje oko otočića metodom direktnog opažanja – unutar kvadrata površine 1 m² utvrđene su prisutne vrste i njihova abundancija. Životne zajednice plitkog infralitorala analizirane su ronjenjem na dah duž transekata koji su vučeni do udaljenosti od 20 metara od obale. Ukupno je utvrđeno 60 vrsta: 16 vrsta alga, 1 vrsta morske cvjetnice i 43 vrste bentoskih beskraljeznjaka. Ustanovljene su sljedeće biocenoze: biocenoza supralitoralnih stijena (u kojoj dominira vrsta *Melaraphe neritoides*), biocenoza mediolitoralnih stijena (dominiraju vrste *Melaraphe neritoides*, *Mytilus galloprovincialis*, *Osilinus turbinatus*, *Balanus* sp., *Patella* sp.), biocenoza infralitoralnih alga (dominiraju alge *Padina pavonica* i *Halimeda tuna*, a od zoobentosa dominiraju različite spužve – *Aplysina aerophoba*, *Ircinia* sp., ježinci – *Paracentrotus lividus*, *Arbacia lixula*), školjkaši – *Ostrea aedulis*, *Perna nobilis*) i biocenoza zamuljenih pijesaka zaštićenih obala u kojoj dolazi cvjetnica *Cymodocea nodosa*. Duž postavljenih transekata primijećene su iste ili slične vrste organizama što ukazuje na to da cijelo područje karakteriziraju slični abiotički i biotički čimbenici. Na istraživanom području zabilježene su i vrste zaštićene Zakonom o zaštiti prirode RH: morska cvjetnica *Cymodocea nodosa*, školjkaš plemenita periska *Pinna nobilis*, rak *Maja squinado*, bodljikaši *Holothuria tubulosa*, *Paracentrotus lividus*.

Glavne riječi: litoral, bentos, kartiranje, abundancija

UVOD

Bentosko područje obuhvaća sva dna od obalne linije do najvećih dubina. Sve vode koje se nalaze iznad bentoskog područja čine pelagičko područje. Vrste koje zovemo bentoske žive u uskoj vezi s dnom, bilo da su na njemu pričvršćene, bilo da u njemu ruju, pužu ili hodaju po njegovoj površini. Čak i ako plivaju u neposrednoj blizini dna, a nikad se od njega ne udaljavaju, zovemo ih bentoskim vrstama (Gamulin-Brida, 1973). Pelagičke vrste neovisne su o dnu i dolaze kao planktonske (koje lebde u slobodnoj vodi) i nektonske (koje se kreću aktivno snagom vlastitih mišića, neovisno o morskim strujama). Unatoč podjelama koje su potrebne radi lakšeg sporazumijevanja, organizmi su u moru ekološki i životno povezani (Bakran–Petricoli, 2007). Tako neki organizmi zaista čitav život provode u pelagijalu, neki u bentosu, no mnogo je i takvih koji dio životnog ciklusa provedu u drugom području (npr. kamenica ili jastog – bentoski organizmi koji imaju planktonske ličinke; lignje – nektonski organizmi koji jaja polažu u bentosu).

Bentosko područje dijeli se na sedam stepenica (Peres i Picard, 1959). To su supralitoral, mediolitoral, infralitoral, cirkalitoral, abisal i hadal. Prve četiri stepenice čine litoralni ili obalni sistem koji se još zove i fitalni sistem jer ga karakterizira prisutnost fotosintetskih organizama (alge i morske cvjetnice), a posljednje tri stepenice čine afitalni sistem za koji je karakterističan izostanak svjetlosti pa time i fotosintetskih organizama i visoki tlak. Litoral je bogat vrstama zbog raznolikosti podloga (stijene, šljunci, pijesci, muljevi) s karakterističnim naseljima. Osim toga, u tom je području prisutno obilje



organskih tvari potrebnih za ishranu životinja jer tu uspijevaju organizmi koji organsku tvar proizvode fotosintezom, a također blizina kopna podrazumijeva veliki kontinentalni donos mineralnih i organskih tvari (Gamulin-Brida, 1973). Međutim, to je također i zona u kojoj su najoštrije struje i najjače varijacije fizikalno-kemijskih faktora, npr. saliniteta i temperature.

Najveći dio dna Jadrana je litoralno područje, tj. plitko more do 200 metara dubine. U geomorfološkom pogledu Jadransko more je razmjerno dugi (783 km), a uski (prosječna širina iznosi 248,3 km) zaljev Sredozemnog mora. Najpliće njegovo područje je područje sjevernog Jadrana gdje dubina ne prelazi 50 metara. U kanalima između otoka dubine su uglavnom između 60 i 80 metara (Bakran-Petricioli, 2007). Najdublji je južni Jadran tj. područje Južnojadranske kotline s dubinom od oko 1233 metra.

U ekološkom je pogledu Jadran pod utjecajem veoma različitih čimbenika. U sjevernom dijelu velik je utjecaj kopnenih voda koje donose obilje hranjivih tvari, a u južnom dijelu Otrantska vrata omogućuju intenzivan utjecaj otvorenog mora, odnosno strujanje čistih dubinskih voda. U biogeografskom pogledu Jadran čini cjelinu s Mediteranom, te je oko 90% vrsta utvrđenih u Jadranu rasprostranjeno i u Mediteranu. Samo oko 10% vrsta su endemski oblici ili vrste koje su nađene samo u sjevernom Jadranu ili sjevernom Atlantiku (Požar-Domac, 1988).

Litoralno područje Jadrana se kao i litoralno područje Sredozemlja dijeli na četiri bentoske stepenice (Gamulin-Brida, 1973.): supralitoral, mediolitoral, infralitoral i cirkalitoral. Samo u najdubljim dijelovima srednjeg i južnog Jadrana nalazimo batijalno područje. Najveći je dio obale plićeg litoralnog područja uz kopno i otoke istočne obale Jadrana kamenit. Mnogo manje ima pješčanih i šljunčanih plaža, a najmanje je muljevitih (Bakran-Petricioli, 2007). Visinu gornjih litoralnih stepenica – supralitorala (pojas prskanja valova) i mediolitorala (pojas plime i oseke) uvjetuje djelovanje mora, stoga je supralitoralna stepenica na zaštićenim mjestima niža od metra, a tamo gdje valovi juga udaraju velikom snagom, može biti visine i nekoliko metara. Supralitoral obilježavaju ekstremni ekološki uvjeti kao što su dugotrajni nedostatak vlage, velika kolebanja temperature i saliniteta, udaranje valova. Zbog toga ovu stepenicu nastanjuju malobrojni organizmi prilagođeni takvim uvjetima. Ovaj pojas karakterističan je po tamnoj, smeđe-crnoj boji koja potječe od epilitskih cijanobakterija. Gornji, bijeli pojas stijena s pokojim halofitom pripada kopnenoj zajednici stjenovite morske obale. Mediolitoral obuhvaća pojas od četrdesetak centimetara u srednjem Jadranu do otprilike jednog metra u visinu u sjevernom Jadranu jer je Jadran more s malim amplitudama morskih doba. Karakterističan je po svjetlijoj boji ispod supralitorala koja potječe od endolitskih cijanobakterija. U mediolitoralu žive oni organizmi koji mogu podnijeti povremeno izranjanje iz mora. Najčešći životinjski organizmi su crvena moruzgva, puževi ogrci i priljepci, ciripedni račići, a od alga za mediolitoral srednjeg Jadrana karakteristična je naša endemska vrsta jadranski bračić (*Fucus virsoides*, *Phaeophyta*). Infralitoralna stepenica (pojas stalno uronjen u more) dobro je razvijena u Jadranu i zbog oligotrofnosti, a time i velike prozirnosti prostire se do dubine od tridesetak metara, ponegdje i preko 45 metara, naročito u južnom Jadranu. To je područje povoljnih ekoloških uvjeta za bentoske organizme pa mu je svojstvena bujna vegetacija, a i životinjski svijet je bogat i raznolik. Ovo je najproduktivniji bentoski pojas. Primarni proizvođači su alge na čvrstom dnu i morske cvjetnice na muljevito-pjeskovitom dnu. Od alga najčešće dolaze smeđe alge iz rodova *Cystoseira*, *Padina* i *Sargassum*, a od morskih cvjetnica *Posidonia* i *Cymodocea*. U tim biocenozama mnogi se organizmi razmnožavaju, hrane i nalaze zaklon. Mnogi od

njih (ribe, rakovi, glavonošci) čovjeku su i ekonomski važni. Čest organizam u tim biocenozama je i zakonom zaštićeni školjkaš plemenita periska (*Pinna nobilis*, Mollusca). U cirkalitoralu je smanjena količina svjetlosti i mala su kolebanja saliniteta i temperature. U Jadranu on zauzima najveći dio hrvatskog teritorijalnog mora, prostire se od donje granice infralitorala pa do dubine od oko 200 m (Bakran-Petricioli, 2007).

Zbog velike raznolikosti i relativno dobre očuvanosti prirode Hrvatska je postala vrlo zanimljivo turističko odredište pa se očekuju ulaganja i razvojni projekti koji će nužno utjecati na prirodu. Kao malo plitko i zatvoreno more, izloženo globalnim klimatskim promjenama i napredovanju invazivnih vrsta, Jadran je već ugrožen čitavim nizom ljudskih aktivnosti: onečišćenje, gradnja i nasipavanje u obalnoj zoni, turizam, ribolov, marikultura, promet itd. Da bi se moglo mudro upravljati morem i njegovim iskorištavanjem, treba što bolje poznavati njegovu biološku raznolikost, a također i kakav će učinak na nju imati različiti zahvati. Nažalost cjelovit popis biološke raznolikost Hrvatske još uvijek ne postoji. O morskim vrstama i staništima zna se puno manje nego o kopnenim i slatkovodnim. More je dugo bilo zanemareno pa se u novije vrijeme intenzivno radi na inventarizaciji morskih vrsta i staništa. Potaknuti tim spoznajama željeli smo se priključiti inventarizaciji, stoga je cilj ovog rada:

1. utvrditi sastav biocenoza oko otoka Galevca
2. utvrditi prostornu varijabilnost istraživanih zajednica na temelju sastava i abundancije vrsta.

Pretpostavljamo da će ove biocenoze, zbog izostanka većeg turističkog pritiska ili drugih negativnih utjecaja, biti standardno građene i da se neće značajnije razlikovati od drugih sličnih biocenoza razvijenih na, uglavnom kamenitoj, obali Jadrana.

METODE RADA

Otok Galevac (Školjić) nalazi se u Zadarskom kanalu između 44°5' s.z.š. i 32°53' z.d. Udaljen je od Zadra 4,7 km, a od naselja Preko na otoku Ugljanu samo 85 metara. Opseg mu je 680 metara, a površina 3 hektara (slika 1). Na otoku je u 15. stoljeću podignut samostan (Runje, 2012) u kojem danas boravi nekoliko fratara. Oni su jedini stanovnici ovog otočića.

Školjić se nalazi u pojasu mediteranske klime koju karakteriziraju suha i vruća ljeta te vlažne i kišne zime. Dominantni vjetrovi tijekom ljeta su maestral i jugo, a zimi je najutjecajnija bura. Zimske površinske temperature mora iznose 10 – 13 °C, a ljetne 22-25 °C (DHMZ, 2018). Slanoća mora na području zadarskog kanala iznosi oko 38 ‰ (IZOR, 2015).



Slika 1 Otočić Galevac nadomak naselja Preko na otoku Ugljanu. Istraživane postaje označene su crvenom točkom (izrađeno pomoću Google Maps)

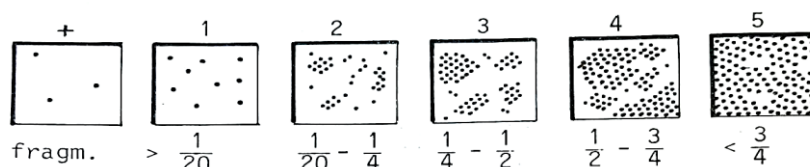
Istraživane su četiri postaje na obali Školjića čija se je orijentacija podudarala s glavnim stranama svijeta. Istraživanja su provedena u kolovozu i rujnu 2017. godine. U području supralitorala i mediolitorala analizirane su životne zajednice metodom direktnog opažanja. Izabrana mjesta u tim pojasevima omeđena su okvirom čije su stranice duge 1 metar (slika 2), zatim su utvrđene prisutne vrste i određen njihov broj, tj. određena je množina ili abundancija (slika 3).

Životne zajednice plitkog infralitorala analizirane su ronjenjem na dah uz uporabu maske, disalice i peraja. Analiza je napravljena duž transekata smještenih pod pravim kutom u odnosu na obalu. Transekti su vučeni od obale do udaljenosti od 20 metara od obale. Na svakom transektu određene su četiri plohe površine 1 m², svakih 5 metara dubine (5, 10, 15, i 20 m). Prosječni broj jedinki vizualno je procijenjen stupnjevima abundancije (slika 3).



Slika 2 Istraživani kvadrat mediolitoralne stepenice na postaji Jug

Ljestvica procjene abundancije bentoskog naselja



Slika 3 Način bilježenja abundancije za bentoska naselja (prema Peresu i Picardu, 1958-1964); += pojedinačni primjerci vrlo rijetka vrsta; 1 = manje od 1/20 ukupne površine pokrivena je naseljem; 2 = 1/20 – 1/4 pokrivena površina; 3 = 1/4 - 1/2 pokrivena površina; 4 = 1/2 – 3/4 i 5 = više od 3/4 površine pokriveno je naseljem određene vrste

Većinom je izbjegavano sakupljanje i konzerviranje uzoraka organizama. Umjesto toga nastojalo se vrste zabilježiti fotoaparatom. Za snimanje su korišteni fotoaparati Paradies 27 bilder unterwasserkamera i Olympus μ 790 SW. Za snimanje u području mediolitorala i supralitorala korišteni su iPhone 5 i Lg G5.

Vrste su djelomično determinirane *in situ*, manji broj životinjskih vrsta je konzerviran u 70 %-tnom alkoholu, a alge su herbarizirane. Određeni dio vrsta determiniran je pomoću radova: Jakl & suradnici: Priručnik za inventarizaciju morskih vrsta Jadrana, 2008.; Turk: Pod površinom Mediterana, 2011.; Milišić: Školjke i puževi Jadrana, 1991.

Za određivanje saliniteta morske vode uzeti su uzorci sa svih postaja te je salinitet određen u Zavodu za javno zdravlje Zadar pomoću uređaja HI931102 HACCP, prijenosnog uređaja za određivanja saliniteta. Ovaj uređaj koristi se metodom mjerenja provodljivosti tekućine kako bi automatski izračunao i dao podatak o salinitetu uzorka.



Običnim živinim termometrom mjerena je temperatura morske vode na dubini od oko 30 centimetara.

Tip dna određen je vizualno. Prema temeljnim obilježjima morsko dno može biti stjenovito, šljunkovito, pjeskovito i muljevito. Stjenovito dno je čvrsta podloga na kojoj je uglavnom prisutna epiflora i epifauna. Šljunak, pijesak i mulj čine pomične podloge sastavljene od čestica različitog promjera (šljunak 2-25 mm, pijesak 0,02-2 mm, mulj 0,002-0,2 mm). Veličina čestica pokazatelj je jačine morskih struja. Struje odnose finiji sediment i na taj način povećavaju prosječnu veličinu zrnaca sedimenta. Na takvoj podlozi dolazi epiflora i epifauna i uglavnom samo endofauna.

Sørensenovom metodom izračunat je kvalitativni kvocijent sličnosti svih postaja međusobno. Sørensenov indeks sličnosti (QS) izračunava se prema sljedećoj formuli:

$$QS = (2c / a + b) \times 100$$

a – ukupni broj vrsta u prvoj zajednici

b – ukupni broj vrsta u drugoj zajednici

c – broj zajedničkih vrsta

Prema dobivenim vrijednostima u postotcima za QS određuje se stupanj sličnosti. Velika sličnost kvalitativnog sastava dviju biocenoza očituje se u visokoj vrijednosti QS, a proporcionalno s opadanjem broja zajedničkih vrsta opada i vrijednost QS (Gamulin – Brida, 1958.):

- $\geq 60\%$ - vrlo visok indeks sličnosti = vrlo velika sličnost
- 50 – 59 % - visok indeks = velika sličnost
- 40 – 49 % - umjeren indeks = umjerena sličnost
- $< 39\%$ - nizak indeks = mala sličnost.

REZULTATI

Fizikalno-kemijski čimbenici

Na terenu su izvršena po 3 mjerenja fizikalno-kemijskih čimbenika i prosječne vrijednosti unesene su u tablicu 1.

Tablica 1 Konfiguracija dna i prosječne vrijednosti fizikalno-kemijskih čimbenika na istraživanim postajama

Čimbenici	Postaja 1 (istok)	Postaja 2 (jug)	Postaja 3 (zapad)	Postaja 4 (sjever)
Temperatura mora (°C)	22,2	22,5	22,5	21,4
Salinitet (‰)	35,9	35,4	35,9	35,9
Nagib obale	22°	13°	0°	27°
Vrsta dna	Stjenovito Šljunkovito Pjeskovito	Stjenovito Šljunkovito Pjeskovito	Pjeskovito Muljevito	Kamenito Šljunkovito Pjeskovito

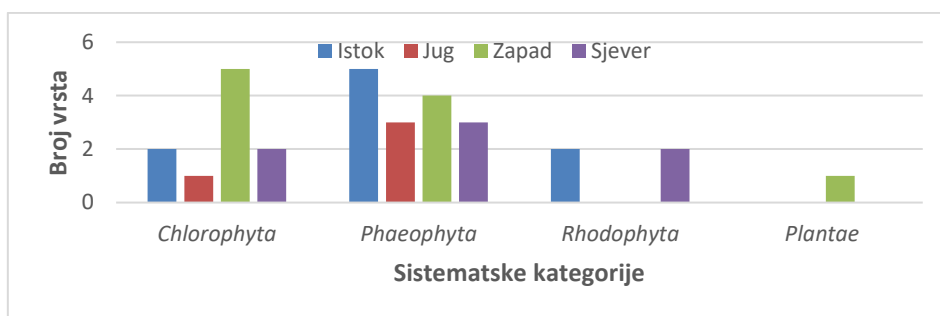
Iz tablice je vidljivo da nema većih razlika u temperaturi mora i salinitetu na istraživanim postajama. Sve su postaje blago nagnute i u području supralitorala i mediolitorala stjenovite, a u području infralitorala stjenovite, šljunkovite i pjeskovite. Odstupa jedino zapadna postaja u kojoj je pristanište, te nema nagiba i dno je pjeskovito i muljevito.

Broj vrsta i njihova abundancija

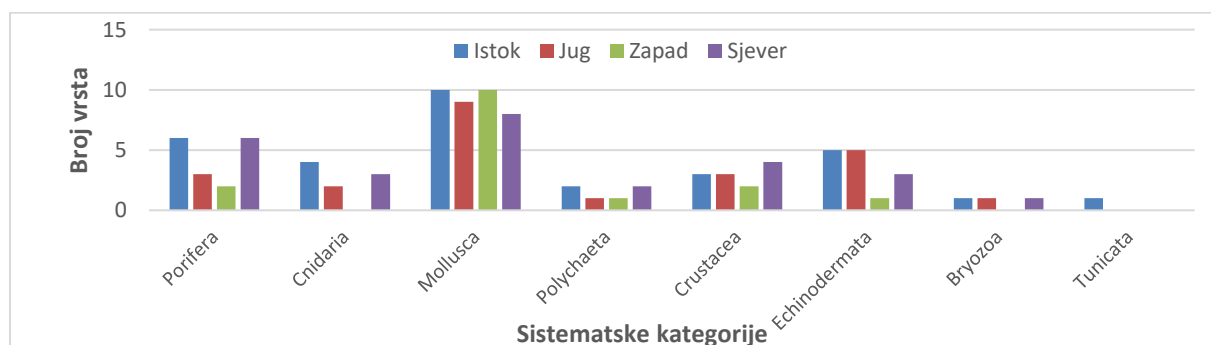
Na istraživanim postajama zabilježeno je ukupno 60 vrsta. Neke od pronađenih vrsta nismo uspjeli determinirati, a neke su determinirane samo do roda (prilog 1, 2 i 3).

Od 60 utvrđenih vrsta 7 pripada zelenim algama (*Chlorophyta*), 7 smeđim algama (*Phaeophyta*), 2 crvenim algama (*Rhodophyta*), 5 spužvama (*Porifera*), 4 žarnjacima (*Cnidaria*), 15 mekušcima (*Mollusca*), 3 mnogočetinašima (*Polychaeta*), 6 rakovima (*Crustacea*), 2 mahovnjacima (*Bryozoa*), 5 bodljikašima (*Echinodermata*) i 1 vrsta plaštenjacima (*Tunicata*). Ukupno je zabilježeno 16 vrsta bentoskih alga, 1 vrsta morske cvjetnice i 42 vrste bentoskih beskralježnjaka. Na svim postajama mekušci su najbogatiji vrstama (slika 4 i 5).

Ukupan broj vrsta zabilježenih po postajama varira od 26, koliko je zabilježeno na zapadnoj postaji do 40 na istočnoj postaji (slika 6).

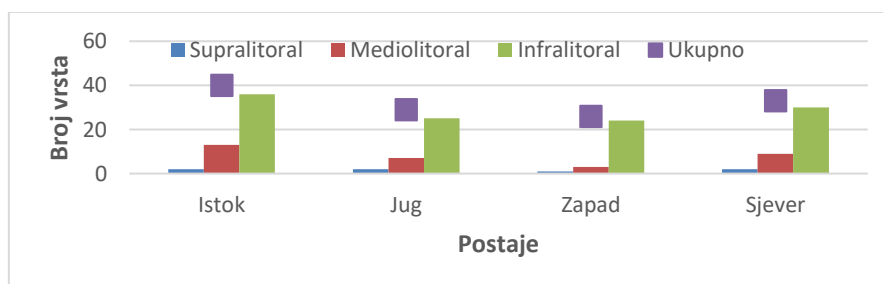


Slika 4 Brojnost vrsta unutar viših sistematskih kategorija – fitobentos



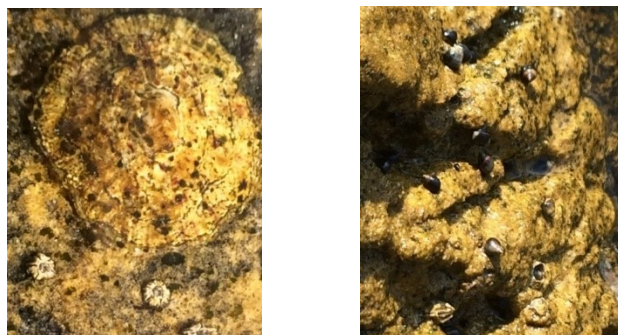
Slika 5 Brojnost vrsta unutar viših sistematskih kategorija – zoobentos

Na istraživanim postajama utvrđene su 4 životne zajednice: biocenoza supralitoralnih stijena, biocenoza mediolitoralnih stijena, biocenoza infralitoralnih alga i biocenoza zamuljenih pijesaka zaštićenih obala. U biocenozi supralitoralnih stijena zabilježene su samo dvije vrste – *Melaraphe neritoides* i *Osilinus turbinatus*, a u biocenozi mediolitoralnih stijena ukupno 18 vrsta od kojih su najabundantnije vrste *Balanus* sp., *Melaraphe neritoides*, *Mytilus galoprovincialis* i *Patella* sp. (slika 7).

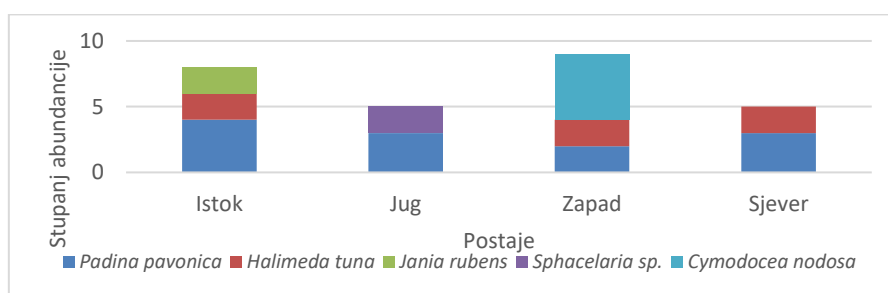


Slika 6 Brojnost vrsta po stepenicama i postajama

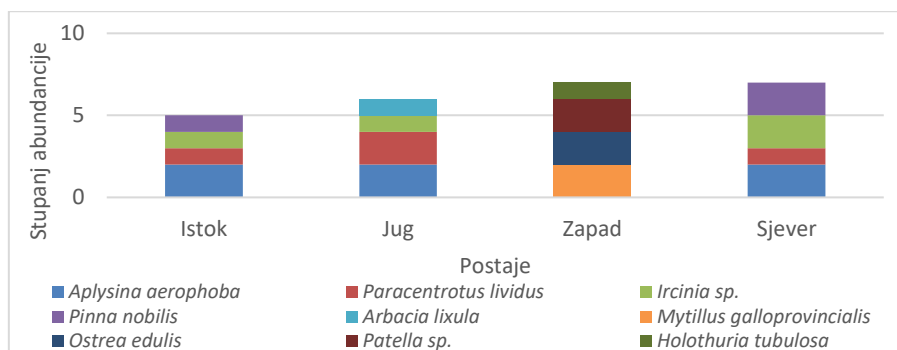
Najveći broj vrsta zabilježen je u biocenozi infralitoralnih alga – 56. Najabundantnije među fitobentoskim vrstama (slika 8) su *Padina pavonica*, *Halimeda tuna*, *Jania rubens*, *Dictyota sp.* i *Sphacelaria sp.*, a među zoobentoskim (slika 9) *Aplysina aerophoba* (slika 10), *Paracentrotus lividus*, *Arbacia lixula*, *Sphaerehinus granularis* (slika 11), *Mytilus galloprovincialis* i *Ostrea aedulis*. U biocenozi zamuljenih pijesaka zaštićenih obala pojavljuje se livada morske cvjetnice vrste *Cymodocea nodosa*.



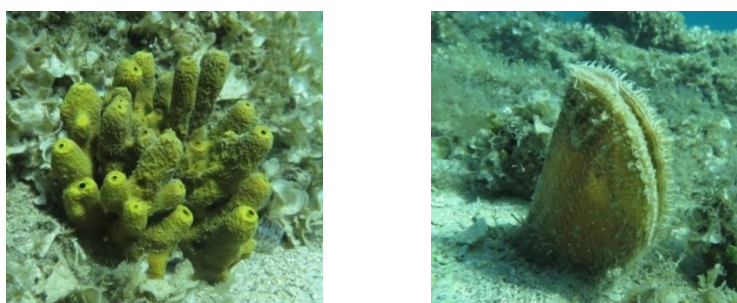
Slika 7 *Patella sp.* i *Balanus sp.* (lijevo) i *Melaraphe neritoides* i *Balanus sp.* (desno) na mediolitoralnim stijenkama istočne postaje, 23. kolovoza 2017., snimio Krševan Medić



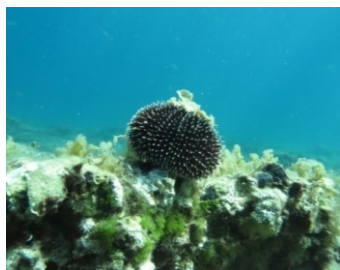
Slika 8 Fitobentoske vrste s najvećim stupnjem abundancije



Slika 9 Zoobentoske vrste s najvećim stupnjem abundancije



Slika 10 *Aplysina aerophoba* (lijevo) i *Pinna nobilis* (desno), infralitoral istočne postaje, 28. kolovoza 2017., snimio Krševan Medić



Slika 11 *Sphaerechinus granularis* (lijevo) u podmorju južne postaje i *Holothuria tubulosa* ispred bolesne spužve (desno) na zapadnoj postaji, 6. rujna 2017., snimio Đani Igljić

Sørensenov koeficijent sličnosti

Prema dobivenim vrijednostima u postotcima za QS (tablica 2) određen je stupanj sličnosti između postaja na temelju kojeg su postaje raspoređene u sljedeće skupine:

- 1.skupina - postaje koje pokazuju vrlo veliku sličnost (koeficijent iznad 60%). Ovoj skupini pripadaju istočna i sjeverna postaja s koeficijentom sličnosti od 74% te istočna i južna postaja s koeficijentom sličnosti od 66%.
- 2.skupina – postaje koje pokazuju veliku sličnost (koeficijent između 50 i 59%). U ovakvom su odnosu sjeverna i južna postaja (koeficijent od 55%), a također i sjeverna i zapadna postaja (51%).
- 3.skupina – postaje umjerene sličnosti (koeficijent između 40 i 49%). Umjerenu sličnost pokazuju zapadna i istočna postaja (48%) te zapadna i južna postaja (40%).
- 4.skupina – postaje male sličnosti (koeficijent ispod 39%). Niti jedna od istraživanih postaja nije u ovakvom odnosu prema ostalima.

Tablica 2 Kvalitativni koeficijent sličnosti istraživanih biocenoza (1= prosječna sličnost svake postaje prema ostalima, 2= prosječna sličnost svih postaja međusobno)

	Istok	Jug	Zapad	Sjever
Istok		66	48	74
Jug	66		40	55
Zapad	48	40		51
Sjever	74	55	51	
1.	62	53	46	60
2.	55			

Najmanji indeks sličnosti prema svim ostalim postajama pokazuje zapadna postaja (46%), a najbližije su međusobno istočna i sjeverna postaja (74%). Sve su postaje vrlo slične što pokazuje i njihov prosječni visoki indeks međusobne sličnosti od 55%.

RASPRAVA

Analizom rezultata s istraživanih postaja utvrđeno je da ne postoji odstupanje u konfiguraciji dna, temperaturi mora i salinitetu između postaja. Sve su postaje blago nagnute pa su u području supralitorala i mediolitorala stjenovite, a u području infralitorala kamenite, šljunkovite i pjeskovite. Izuzetak je jedino zapadna postaja u kojoj je podignuta lučica, hidrodinamizam je tamo puno slabije izražen pa je i veće taloženje finog sedimenta, stoga je dno pjeskovito i muljevito, bez nagiba. Zabilježena temperatura mora u skladu je s prosječnim temperaturama za to doba godine i iznosi 22°C. Nešto niži salinitet od 36,6‰ u odnosu na prosječnih 38‰ mogao bi biti posljedica obilnih kiša koje su pogodile zadarsko područje u tjednu prije uzimanja uzoraka (prema podacima DHMZ-a samo 11. rujna tijekom dva jutarnja sata palo je 156 litara kiše na metar kvadratni).



Od 60 utvrđenih vrsta, fitobentosu pripada 17 vrsta. Među tim vrstama izrazito su slabo zastupljene crvene alge (Tablica 4), iako prema istraživanjima Špana i Antolića (1996) za područje cijelog srednjeg Jadrana kvocijent R/P (Rodophyta/Phaeophyta) iznosi 2,6. Naš rezultat nije posljedica stvarnog izostanka alga iz te skupine nego je posljedica poteškoća u njihovoj determinaciji, tim više što je na mnogim talusima primijećeno nakupljanje sluzi i mulja. Prema tome, na svim našim postajama prevladavaju smeđe alge, a među njima najzastupljenija vrsta je *Padina pavonica* (Slika 8). To je alga tropskih afiniteta (Gamulin-Brida, 1973) pa je, za razliku od većine drugih vrsta alga u Jadranu koje se maksimalno razvijaju od siječnja do travnja (Munda, 1960), ova alga dobro razvijena i u ljetnim mjesecima. Ovakvih je afiniteta i zelena alga *Halimeda tuna*, također dobro zastupljena na našim postajama. Ovi rezultati podudaraju se s rezultatima koje iznose Antolić i suradnici (2009) vezano uz morsku raznolikost otoka Biševa i Visa. Oni navode da i tamo tijekom ljeta prevladavaju *Padina pavonica* na plitkim osvjetljenim mjestima, a *Flabellia petiolata* i *Halimeda tuna* na dubljim zasjenjenim mjestima.

Prema Antoliću i suradnicima (2011) u Jadranskom moru smeđe alge su glavni građevni elementi bentoske vegetacije na stjenovitoj podlozi. Međutim, prema istim autorima u tim naseljima količinom prevladavaju vrste iz roda *Cystoseira*, a ne *Padina*. Na našim postajama vrste iz roda *Cystoseira* su malobrojne. Je li uzrok tome onečišćenje, ne bismo mogli sa sigurnošću tvrditi. Naime, Antolić i Špan (1996) utvrdili su da se duž čitavog Jadrana zbog utjecaja onečišćenja smanjila gustoća i pokrovnost vrsta iz ovog roda, no isto tako, poznato je da predstavnici ovog roda stagniraju tijekom ljetnog i jesenskog razdoblja, a svoj maksimum dostižu u proljeće. Stoga bi, zbog ove periodičnosti u razvoju alga, bilo potrebno obaviti kartiranje tijekom ostalih godišnjih doba.

Dominantna vrsta u fitobentosu zapadne postaje je morska cvjetnica *Cymodocea nodosa*. Ova vrsta za razliku od posidonije koja traži čišći pijesak (Ercegović, 1959), dolazi na pješćanim dnima sa znatnijom primjesom mulja i na vrlo zaklonjenim lokalitetima odmah ispod površine. Livade morskih cvjetnica dobro su stanište za brojne vrste morske faune koje tu pronalaze hranu i zaklon.

U zoobentosu su utvrđene ukupno 53 vrste. Zbog ekstremnih uvjeta života, stalnog ili povremenog stanja izvan vode, u supralitoral i mediolitoral je, očekivano, utvrđen manji broj vrsta nego u infralitoral u kojem su zbog stalne uronjenosti i dobrog osvjetljenja životni uvjeti puno bolji. U biocenozi supralitoralnih stijena na istraživanim postajama dominira vrsta *Melaraphe neritoides*, pužić koji dobro podnosi nedostatak vlage i kolebanje temperature i saliniteta. Međutim, brojnost ove vrste puno je veća u mediolitoralnoj stepenici na svim postajama što nije čudno jer u razdobljima mirnog mora i ljetne žege vagilne vrste supralitorala često silaze na mediolitoralnu stepenicu gdje nalaze potrebnu vlagu (Gamulin-Brida, 1973). Na našim postajama nisu zabilježene neke od vrsta karakterističnih za supralitoralne stijene kao što su *Ligia italica* i *Chthamalus depressus*. Množinom najzastupljenija zoobentoska skupina na mediolitoralnim stijenama naših postaja su rakovi vitičari.

Oni su posebno gusto raspoređeni u nižem mediolitoral, a to je područje koje pripada rodu *Balanus*. Ova vrsta raste brže i stvara gušće populacije od roda *Chthamalus* (Gamulin-Brida, 1973). Vjerojatno je to razlog zbog kojeg na našim postajama nismo zabilježili vrstu karakterističnu za ovu stepenicu – *Chthamalus stellatus*. Na istraživanim postajama dobro su zastupljene i vrste roda *Patella* čija piramidalna kućica je dobra prilagodba za očuvanje rezerve vode, a prisutni su i drugi redovni



stanovnici mediolitorala kao hiton (*Calichiton olivaceus*), puž ogrc (*Osilinus turbinatus*), moruzgva (*Actinia equina*), smeđa vlasulja (*Anemonia viridis*). Na svim postajama, osim sjeverne na granici prema infralitoralu, dobro je razvijena vrsta *Mytilus galloprovincialis*. Međutim, prisutnost dagnje u većoj količini ne mora nužno značiti onečišćenje jer, kako navodi Gamulin-Brida (1973), ona u Jadranu tvori gusta naselja u dva različita biotopa – jedno su gusta naselja na izloženim obalama gdje strujanje vode osigurava dovoljno hranjivih četica, a drugo su gusta naselja zaklonjenih obala gdje je voda onečišćena i obiluje organskim česticama.

U infralitoralu su utvrđene dvije biocenoze – biocenoza fotofilnih alga i biocenoza zamuljenih pijesaka zaštićenih obala. U biocenozi fotofilnih alga, kako je već navedeno, dominira alga *Padina pavonica*, a mnogi životinjski organizmi nalaze hranu, zaklon i mjesto za razmnožavanje tako da ova biocenoza obiluje vrstama. Karakteristični organizmi koji naseljavaju takve zajednice zabilježeni su i na našim postajama. To su spužve žuta sumporača (*Aplysina aerophoba*), žarnjak smeđa vlasulja (*Anemonia viridis*), mekušci *Columbella rustica*, petrovo uho (*Halotis tuberculata*), kunjka (*Arca noae*), dagnja (*Mytilus galloprovincialis*), ježinci crni (*Arbacia lixula*) i hridinski (*Paracentrotus lividus*) i dr. Na istočnoj, sjevernoj i južnoj postaji dominiraju spužve i ježinci, a na zapadu mekušci – kamenice, dagnje i priljepci. Dobro razvijene populacije spužava pokazuju da je strujanje dovoljno intenzivno i konstantno te osigurava obnovu hranjivih četica posebno na istočnoj i sjevernoj strani otoka. Na zapadnoj strani otoka uočena je bolesna spužva od čije polovice je ostao samo skelet koji se mrvi. Takve promjene na spužvama zabilježene su još 2013. godine duž čitave Dalmacije. Bolest je pogodila vrstu *Spongia officinalis*, ali i različite vrste roda *Ircinia*. Koji je uzrok nije poznato, sumnja se na mnogo toga – promjene u okolišu, porast temperature, virusnu bolest, bakterijsku infekciju (Cvitković, 2013).

Na istraživanim postajama zabilježene su tri vrste ježinaca – *Paracentrotus lividus*, *Arbacia lixula* i *Sphaerechinus granularis*. Sve su vrste česte, a najabundantnija je *Paracentrotus lividus*. Ovo pokazuje značajni utjecaj ježinaca, što nije novost za Jadran. Naime, rezultati kartiranja alga gornjeg infralitorala provedenog tijekom 2010. godine pokazuju kako se za područje Dalmacije radi o gotovo 80 % obale pod značajnim utjecajem ježinaca (Antolić sur., 2011). Povećanje broja ježinaca može biti izazvano abiotskim promjenama, kao i izostankom predatora (npr. riba) koje se hrane ježincima (Grubelić i sur., 2007). Ježinci brste alge i reduciraju njihova naselja u najplićim područjima, a to mijenja sastav zoobentosa jer mnoge vrste gube stanište, hranilište i mjesto zaklona.

U biocenozi zamuljenih pijesaka zaštićenih obala koja je razvijena na zapadnoj postaji epifauna je oskudno razvijena, prisutni su trpovi (*Holothuria tubulosa*), pužići roda *Cerithium* i mnogočetinaš *Serpula vermicularis*, dakle većinom organizmi koji se hrane filtriranjem morske vode i organskim detritusom. Brojni organizmi žive unutar sedimenta na što ukazuju mnogobrojne rupe na površini muljevitog pijeska. Unutar livade morske cvjetnice cimodoceje koja je razvijena u sklopu ove biocenoze, javlja se i naš zaštićeni školjkaš *Pinna nobilis*.

Prema Sørensenovu koeficijentu sličnost između istraživanih postaja je velika i iznosi 55% za sve postaje međusobno. Tako velika sličnost posljedica je geografske blizine postaja, slične dubine uzorkovanja i fizičke sličnosti samog staništa (hridinasto dno). Nešto veće odstupanje, tj. manju prosječnu sličnost, pokazuje jedino zapadna postaja (46%) na kojoj je dno pjeskovito i muljevito.



Istraživane biocenoze razvijene su u uskom području uz obalu gdje je pritisak ljudskih aktivnosti velik. Ugrožavaju ih podmorski ispusti otpadnih voda, betoniranje i niveliranje neravne stjenovite obale (južna postaja), iskorištavanje dijela obale za plaže zbog čega su ova staništa pod značajnim ljudskim pritiskom posebno zbog gaženja, a primijećeno je i namjerno uništavanje strogo zaštićenog školjkaša – periske (*Pinna nobilis*). Naime, neke su jedinke na istraživanim postajama bile polegnute ili slomljene.

Zbog ljudskog pritiska, ali i zbog periodičnosti u razvoju ovih biocenoza te mogućeg prekomjernog razvoja ježinaca i pojave bolesti na spužvama, potrebno bi bilo nastaviti ova istraživanja i pratiti stanje bentosa u budućnosti.

ZAKLJUČCI

Na temelju istraživanja bentoskih biocenoza u podmorju otočica Galevca zaključili smo sljedeće:

- ✱ Na morskom dnu otoka Galevca prisutne su četiri biocenoze: biocenoza supralitoralnih stijena, biocenoza mediolitoralnih stijena, biocenoza infralitoralnih alga i biocenoza zamuljenih pijesaka zaštićenih obala.
- ✱ U biocenozi supralitoralnih stijena najzastupljenija životinjska vrsta je pužić litorina (*Melaraphe neritoides*), a tamnu boju ovim stijenama daju epilitske cijanobakterije.
- ✱ U biocenozi mediolitoralnih stijena najzastupljenije zoobentoske vrste su *Melaraphe neritoides*, *Mytilus galloprovincialis*, *Osilinus turbinatus* i *Patella* sp. Od cijanobakterija česta je *Rivularia* sp. Alge su malobrojne, najzastupljenije među njima su *Enteromorpha* sp., *Sphacelaria* sp. i *Jania rubens*.
- ✱ U biocenozi infralitoralnih alga dominiraju smeđa alga *Padina pavonica* i zelena alga *Halimeda tuna*.
- ✱ U infralitoralnoj stepenici najzastupljenije zoobentoske vrste su spužve *Aplysina aerophoba* i *Ircinia* sp., žarnjaci *Anemonia viridis* i *Cladocora caespitosa*, mekušci *Ostraea edulis*, *Pinna nobilis* i *Patella* sp., bodljikaši *Holothuria tubulosa*, *Arbacia lixula*, *Paracentrotus lividus* i *Sphaerechinus granularis*.
- ✱ Morska cvjetnica koja je razvijena u biocenozi zamuljenih pijesaka zaštićenih obala je *Cymodocea nodosa*.
- ✱ Sastav obrađenih biocenoza podudara se s dosad poznatim rezultatima istraživanja u istočnom Jadranu. Navedene biocenoze građene su od za njih karakterističnih elemenata bentoske flore i faune.
- ✱ Duž postavljenih transekata primijećene su iste ili slične vrste organizama što ukazuje na to da cijelo područje karakteriziraju slični abiotički i biotički čimbenici.
- ✱ Na cijelom području istraživanja zabilježene su i mnoge vrste zaštićene Zakonom o zaštiti prirode RH: morska cvjetnica *Cymodocea nodosa*, školjkaš plemenita periska (*Pinna nobilis*), rak *Maja squinado*, bodljikaši *Paracentrotus lividus* i *Holothuria tubulosa*.

LITERATURA

- Antolić, B., Nikolić, V., Žuljević, A. 2011. Crveni popis morskih alga i morskih cvjetnica Hrvatske, Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split
- Bakran-Petricioli, T. 2007. Morska staništa. Priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb
- Belamarić, J., Šerman, D. 1989. Ekološka studija podmorja Lokruma, Hrvatsko ekološko društvo, Zbornik radova sa simpozija održanog 1987. u Dubrovniku, str. 361-411.



- CAUP Image database, <https://botany.natur.cuni.cz/algo/database/content/herbarium> 24.9.2017
- Ercegović, A. 1959. Značajne crte vegetacije alga Jadranskog mora, Acta botanica Croatica 18/19, 17-36.
- ETI Bioinformatics Marine Species Identification Portal, species-identification.org 9.9.2017.
- Gamulin-Brida, H. 1960. Primjena Sørensenove metode pri istraživanju bentoskih populacija, Biološki Glasnik 13: 21-41.
- Grubelić, I., Šimunović, A. 1997. Prilog poznavanju bentoske faune šireg područja Splita, Tisuću godina prvog spomena ribarstva u Hrvata, Zbornik radova istoimenog skupa, Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, str. 613-627.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2018. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway algaebase.org/search/species 1.11.2017.
- Jakl, Z. i suradnici 2008. Priručnik za inventarizaciju morskih vrsta Jadrana, Sunce, Split
- MACOI Portuguese Seaweeds Website, <http://macoi.ci.uc.pt/galeria.php?page> 5.10.2017.
- Mag. Christian Winter Biologie Biowin Rotalgen, biowin.at/index.htm?meer/navigat/rotalgen.htm 29.10.2017.
- Magaš, D. 2000. Geografske osnove razvitka otoka Ugljana, Geoadria 5, 49-92.
- Matonićkin, I. 1978. Beskranješnjaci, Biologija nižih avertebrata, Školska knjiga, Zagreb
- Matonićkin, I. 1981. Beskranješnjaci, Biologija viših avertebrata, Školska knjiga, Zagreb
- Milišić, N. 1991. Školjke i puževi Jadrana, Logos, Split
- Peres, J.M., Gamulin-Brida, H. 1973. Biološka oceanografija (Bentos, Bentoska bionomija Jadranskog mora), Školska knjiga, Zagreb
- Požar-Domac, A. 1988. O biologiji mora, Mala ekološka biblioteka, Hrvatsko ekološko društvo, Zagreb
- Runje, P. 2012. Prema izvorima II. Rasprave i članci o hrvatskim franjevcima trećoredcima glagoljašima, Provincijalat franjevaca trećoredaca glagoljaša, Krk
- Špan, A., Antolić, B. Sastav, rasprostranjenost i stanje bentoske flore na širem području Splita, Tisuću godina prvog spomena ribarstva u Hrvata, Zbornik radova istoimenog skupa, Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, str. 493-513.
- Špan, A., Požar-Domac, A., Antolić, B., Belamarić, J. 1989. Bentos litoralnog područja otoka Lokruma, Hrvatsko ekološko društvo, Zbornik radova sa Simpozija održanog 1987. u Dubrovniku, str. 329-360.
- Šolić, M. 2005. Ekologija mora, Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split
- The Seaweed Site: information on marine algae, seaweed.ie/descriptions 7.10.2017.
- Turk, T. 2011. Pod površinom Mediterana, Školska knjiga, Zagreb

PRILOZI

Prilog 1 Abundancija vrsta u supralitoralnoj stepenici

Vrsta/Postaja	Istok	Jug	Zapad	Sjever
Koljeno Mollusca				
<i>Melaphe neritoides</i> (Linnaeus, 1758)	2	1	+	+
<i>Osilinus turbinatus</i> (Born, 1778)	+	+		+

Prilog 2 Abundancija vrsta u mediolitoralnoj stepenici

Vrsta/Postaja	Istok	Jug	Zapad	Sjever
Koljeno Cyanobacteria				
<i>Rivularia</i> sp.	1	2		
Koljeno Chlorophyta				
<i>Acetabularia</i> sp.	+			
<i>Enteromorpha</i> sp.	+			2
Koljeno Pheophyta				
<i>Cystoseira</i> sp.				+
<i>Sphacelaria</i> sp.		2		
Koljeno Rhodophyta				
<i>Jania rubens</i> (Linnaeus) J.V. Lamouroux, 1816	+			+
<i>Polysiphonia</i> sp.				+
Koljeno Cnidaria				
<i>Actinia equina</i> (Linnaeus, 1758)	+			
<i>Anemonia viridis</i> (Forsskal, 1775)	+			+
Koljeno Mollusca				

Vrsta/Postaja	Istok	Jug	Zapad	Sjever
<i>Calichiton olivaceus</i> Spengler, 1797	+			
<i>Columbella rustica</i> (Linnaeus, 1758)	+			
<i>Melaphe neritoides</i> (Linnaeus, 1758)	3	2	1	1



<i>Mytilus galloprovincialis</i> Lamarck, 1819	1	+	1	
<i>Osilinus turbinatus</i> (Born, 1778)	1	1		+
<i>Patella</i> sp.	2	1		+
Koljeno Crustacea				
<i>Balanus</i> sp.	4	4	1	+

Prilog 3 Abundancija vrsta u infralitoralnoj stepenici

Vrsta/Postaja	Istok	Jug	Zapad	Sjever
Koljeno Chlorophyta				
<i>Acetabularia</i> sp.	+	+		
<i>Codium effusum</i> (Rafinesque) DelleChiaje, 1829			1	1
<i>Enteromorpha</i> sp.			+	
<i>Flabellia petiolata</i> (Turra) Nizamuddin, 1987			1	
<i>Halimeda tuna</i> (J. Ellis&Solander) J.V. Lamouroux, 1816	2		2	2
<i>Ulothrix</i> sp.			+	
<i>Ulva</i> sp.			+	
Koljeno Phaeophyta				
<i>Cladostephus verticillatus</i> (Lighfoot) Lyngbye, 1819			+	
<i>Cystoseira</i> sp.	+		+	+
<i>Dictyota</i> sp.	1	2	1	1
<i>Halopteris</i> sp.	1			
<i>Padina pavonica</i> (Linnaeus) Thivy, 1960	4	3	2	3
<i>Sargassum</i> sp.	+			
<i>Sphacelaria</i> sp.		2		
Koljeno Rhodophyta				
<i>Jania rubens</i>	2			+
<i>Polysiphonia</i> sp.	+			+
Koljeno Plantae-Angiospermae				
<i>Cymodocea nodosa</i> (Ucria) ascherson, 1870			5	
Koljeno Porifera				
<i>Aplysina aerophoba</i> (Nardo, 1833)	2	2		2
<i>Cliona</i> sp.	+			+
<i>Ircinia</i> sp.	1	1	+	2
<i>Ircinia variabilis</i> (Schmidt, 1862)	1			1
<i>Phorbas fictitius</i> (Bowerbank, 1866)	+	1		1
Koljeno Cnidaria				
<i>Anemonia viridis</i> (Forsskal, 1775)	+	+		+
<i>Balanophyllia europaea</i> (Risso, 1826)	+			+
<i>Cladocora caespitosa</i> (Linnaeus, 1767)	+	+		+
Koljeno Mollusca				
<i>Arca noae</i> (Linnaeus, 1758)			+	
<i>Calichiton olivaceus</i> Spengler, 1797	+			
<i>Cerithium lividulum</i> Risso, 1826	+	+		
<i>Cerithium vulgatum</i> Bruguiere, 1792	+		+	
<i>Columbella rustica</i> (Linnaeus, 1758)	+	+		+
<i>Haliotis tuberculata</i> Linnaeus, 1758			+	
<i>Hexaplex trunculus</i> (Linnaeus, 1758)	+		+	
<i>Mytilus galloprovincialis</i> Lamarck, 1819			2	
<i>Ostraea edulis</i> Linnaeus, 1758	1	1	2	+
<i>Patella</i> sp.	+	+	2	+
<i>Pecten jacobaeus</i> (Linnaeus, 1758)		+		
Vrsta/Postaja	Istok	Jug	Zapad	Sjever
<i>Pinna nobilis</i> Linnaeus, 1758	1	+	+	2
<i>Rocellaria dubia</i> (Pennant, 1777)		+	1	+
Koljeno Annelida-Polychaeta				



<i>Protula tubularia</i> (Montagu, 1803)				+
<i>Serpula vermicularis</i> Linnaeus, 1767	+		+	+
<i>Spirorbis</i> sp.	+	+		
Koljeno Arthropoda-Crustacea				
<i>Clibanarius</i> sp.	+	+		+
<i>Maja squinado</i> (Herbst, 1788)				+
<i>Paguristes</i> sp.			+	+
<i>Palaemon elegans</i> Rathke, 1837	1			
<i>Pisidia longicormis</i> (Linnaeus, 1767)		+		
Koljeno Echinodermata				
<i>Holothuria tubulosa</i> Gmelin, 1791	+	+	1	+
<i>Arbacia lixula</i> (Linnaeus, 1758)	+	1		
<i>Ophiotrix fragilis</i> (Abildgaard in O.F. Muller, 1789)	+	+		
<i>Paracentrotus lividus</i> (Lamarck, 1816)	1	2		1
<i>Sphaerechinus granularis</i> (Lamarck, 1816)	+	1		+
Koljeno Bryozoa				
<i>Crveni korasti mahovnjak</i>	+			+
<i>Narančasti korasti mahovnjak</i>		+		
Koljeno Chordata-Tunicata				
<i>Zadružna mješćinica</i>	+			



„TOPLINSKI OTOK“ U GRADU JASTREBARSKOM

Iva Radečić, 3. razred

Srednja škola Jastrebarsko, Jastrebarsko

Mentor: Klementina Stepinac

SAŽETAK

Toplinski otok označava gradsko područje koje je znatno toplije od okolnih ruralnih područja. Cilj rada je bio uočiti postoje li temperaturne razlike zraka na različitim lokalitetima u gradu te dokazati postojanje UHI efekta (eng. Urban Heat Island) u gradu Jastrebarskom kao što postoji u velikim gradovima poput Beča. Mjerenja su provedena na četiri različita lokaliteta koja se razlikuju prema vrsti podloge (asfalt ili trava) i okruženju (prirodno – park Erdödy ili urbano – centar grada). Temperature zraka su mjerene tijekom jedne godine svakih pet dana. Nakon obrade i analize podataka nisu dobivene dovoljno velike razlike u temperaturama između prirodnog i urbanog okruženja koje bi ukazale na postojanje UHI efekta. Razlog tome su niske zgrade (4-5 katova), mali broj stanovnika i dovoljno zelenih površina koje sprječavaju nastanak toplinskog otoka i zagrijavanje zraka tijekom ljeta.

Ključne riječi: zelene fasade, efekt kanjona, urbanizacija, vegetacija

UVOD

Uvriježeno je mišljenje da je u ruralnim područjima temperatura ljeti puno ugodnija, nego u gradovima. No, je li to točno i zašto je tako? Odlučila sam istražiti literaturu i vidjeti je li moguće dokazati da je snižavanje temperature zraka uzrokovano zelenilom. Na internetu sam pronašla članak da taj fenomen u struci ima naziv gradski (urbani) toplinski otok ili eng. Urban Heat Island, skraćeno UHI efekt. Toplinski otok grada označava područje veće zagrijanosti atmosfere iznad grada u odnosu na prirodni zeleni okoliš (Likić, 2009.). U tom članku navodi se podatak da je u Beču još prije nekoliko godina donesen strateški plan za smanjenje temperature zraka u gradu i da su temperature u centrima milijunskih gradova, kao što je Beč, u današnje vrijeme za tri stupnja više u odnosu na periferne dijelove grada. Time potaknuta, pokušala sam ustanoviti postoji li porast temperature zraka u mojem gradu, koji je manji. U današnje vrijeme urbanizacije proces odvodnje vode s javnih gradskih površina je izuzetno važan, no zbog toga su umanjeni prirodni efekti hlađenja koje voda ima na okoliš. Još važnije, manjak drveća i druge vegetacije smanjuje udio vodene pare u zraku nastao procesom transpiracije (Roščak, 2014.). Uvriježeno je mišljenje da se vrućina u gradovima stvara prvenstveno samo zbog velikog broja stanovnika na maloj površini ili previše betonskih površina i tamnih fasada, no UHI efekt stvara se i zbog nedostatka zelenih površina (parkova, travnjaka, drvoreda). Veliki europski gradovi koji su uočili opasnost od UHI efekta imaju u svojim planovima kratkoročne i dugoročne mjere kako bi nepovoljne posljedice zagrijavanja bile ublažene. Najbolji primjer toga je već spomenuti bečki plan za smanjenje vrućina. U tom planu je navedeno više kratkoročnih mjera koje je potrebno poduzimati kada se pojavi ekstremni toplinski val. Dugoročna rješenja trebaju pak biti tražena u pametnom planiranju gradova pomoću kojih bi opasnosti od ekstremnih utjecaja bile izbjegnute ili smanjene. Riječ je o planskom podizanju zelenih i vodenih površina, izgradnji takozvane zelene i plave infrastrukture pod kojom se podrazumijevaju ne samo novi parkovi, već i zeleni krovovi, fasade, iskorištavanje naplavnih površina za opskrbu vodom i navodnjavanje (Vienna.hr, 2016.). Jedan od sjajnih primjera ozelenjivanja u Beču je fasada zgrade „Službe za zbrinjavanje otpada“ koja je od prizemlja do krova pokrivena raznim biljkama. Na fasadu zgrade s ukupnom površinom od 850 m² montirano je 2 850 m limenih držača za biljke i posađeno je

17 000 različitih biljaka (Slika 1). Prednost ovakvih zgrada sa zelenom fasadom je i to što je grad obogaćen neophodnim zelenilom i na mjestima gdje sadnja drveća i travnjaka nije moguća (Vienna.hr, 2016.) .



Slika 1 Zelena fasada zgrade u Beču (izvor: Vienna.hr, 2016.)

Hrvatska izvještajna novinska agencija (HINA) je 2015. godine istražila imaju li četiri najveća hrvatska grada (Zagreb, Rijeka, Osijek i Split) dugoročne planove razvoja grada vezane uz UHI efekt. Ustanovili su da naši gradovi nemaju planove vezane uz stvaranje urbanih toplinskih otoka. Isto tako u Republici Hrvatskoj ne postoje zakonske regulative koje nalažu da gradovi moraju raditi takva istraživanja i strategije (Lučić,2015.). U Upravnom odjelu za prostorno uređenje, gradnju i zaštitu okoliša zagrebačke županije ispostava Jastrebarsko istražila sam postoje li službena mjerenja o utjecaju UHI efekta na zagrijavanje zraka te je dobiven isti odgovor. Među stanovnicima grada i učenicima svoje škole provela sam anketu te su rezultati ispitivanja pokazali da sudionici u većini ne znaju što je UHI, ali su svjesni da urbanizacija uzrokuje porast temperature zraka u centru grada (Prilog 1). Ostalo je otvoreno pitanje: utječe li urbanizacija u malim gradovima kao što je Jastrebarsko na povišenje temperature zraka kao što je to slučaj u milijunskom gradu Beču?

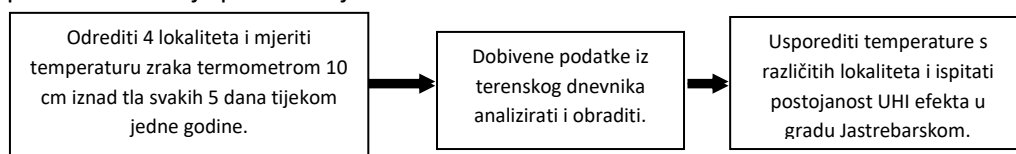
Ciljevi ovog istraživanja su:

- na temelju dobivenih podataka analizirati postoje li razlike u prosječnim temperaturama zraka između prirodnog i urbanog okruženja na području grada,
- analizom izmjerenih dnevnih temperatura zraka za zimske i ljetne mjesecе tijekom jedne godine ispitati postojanje urbanog toplinskog otoka,
- usporediti prosječne temperature zraka u urbanom centru i parku ovisno o vrsti podloge (asfalt/travnata podloga) .

Pretpostavka je da u gradu Jastrebarskom postoji urbani toplinski otok što znači da očekujem da će prosječne temperature zraka u centru grada biti veće od prosječnih temperatura zraka u parku Erdödy tijekom cijele godine. Isto tako očekujem veću prosječnu temperaturu zraka na asfaltnoj podlozi tijekom cijele godine u odnosu na travnatu podlogu.

METODE RADA

Shema plana istraživanja prikazana je na slici 2.



Slika 2 Prikaz plana istraživanja; određivanje lokaliteta, načina mjerenja temperature zraka te analiza i obrada podataka

Terenski dio istraživanja provedeno je od veljače 2017. do veljače 2018. godine (Prilog 2). Od pribora je korišten TFA Dotstmann digitalni termometar s unutarnjim temperaturnim rasponom od -10 do $+60$ °C i s vanjskim temperaturnim rasponom od -50 do $+70$ °C (Slika 3). Pogreška mjerenja iznosi ± 1 °C. Istraživanje je provedeno na četiri lokaliteta u mojem gradu (Tablica 1). Temperatura zraka mjerena je 10 cm iznad tla (travnata i asfaltna podloga) na čvrstoj podlozi svakih pet dana na navedenim mjestima u vremenskom razdoblju između 11:00 sati i 14:00 sati (Slika 4). Koordinate lokaliteta određene su pomoću aplikacije Google Earth te su zapisane u Gauss – Krugerovom formatu. Izmjerene temperature zraka bilježene su u terenskom dnevniku i kasnije unesene u računalno te obrađene pomoću MS Office Excela 2007 programa. Izračunata je aritmetička sredina temperature zraka tijekom toplijih (travanj-rujan) i hladnijih (listopad-ožujak) mjeseci. Rezultati su grafički prikazani.

Tablica 1 Opis lokaliteta

	PRIRODNO OKRUŽENJE		URBANO OKRUŽENJE	
Lokalitet	A (Slika 5)	B (Slika 5)	C (Slika 6)	D (Slika 7)
Koordinate	45° 40' 40" N, 15° 38' 42" E	45° 39' 57" N, 15° 38' 36" E	45° 40' 20" N, 15° 39' 10" E	45° 40' 15" N, 15° 39' 12" E
Mjesto	park Erdödy	park Erdödy	centar grada	gradsko parkiralište
Izloženost suncu	sjena drveća	sunčevo zračenje	sjena zgrade	sunčevo zračenje
Vrsta podloge	travnata	travnata	asfaltna	asfaltna

Razlog odabira lokaliteta s različitim podlogama jest pokušati ispitati utječe li vrsta podloge na temperature zraka. Prema stranicama Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ, 2000.) cjelokupno područje grada Jastrebarskog ima umjerenu toplu kontinentalnu klimu prema Köppenovoj klasifikaciji klime:

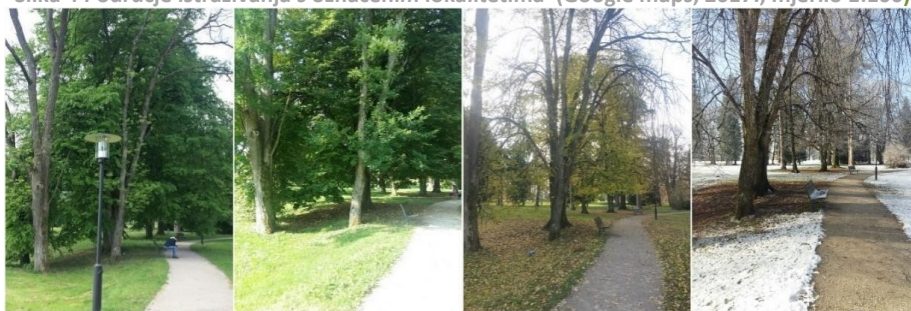
- prosječna srednja godišnja temperatura zraka iznosi oko 11 °C,
- srednja temperatura zraka: zimi oko 1 °C, u proljeće 11 °C, u ljeto 20 °C i u jesen 11 °C,
- srednja godišnja maksimalna temperature iznosi oko 35 °C, a minimalna oko -16 °C,
- temperatura najtoplijeg mjeseca iznosi oko 21 °C, a najhladnijeg oko 0 °C.



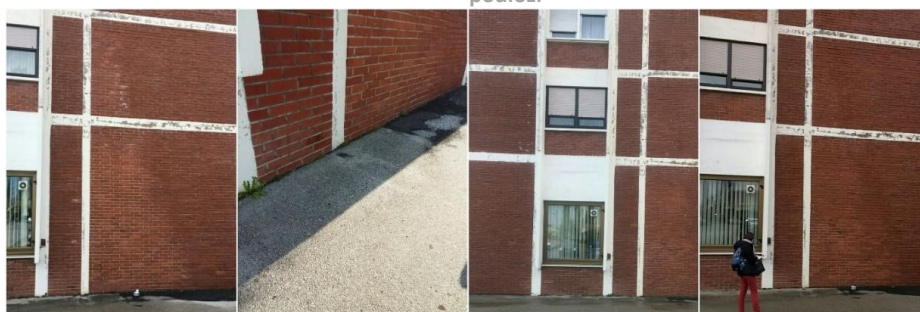
Slika 3 TFA Dotstmann digitalni termometar postavljen na visinskoj podlozi od 10 cm



Slika 4 Područje istraživanja s označenim lokalitetima (Google maps, 2017., mjerilo 1:100)



Slika 5 Lokaliteti A (sjena) i B (direktno sunčevo zračenje) u parku Erdödy tijekom sva četiri godišnja doba na travnatoj podlozi



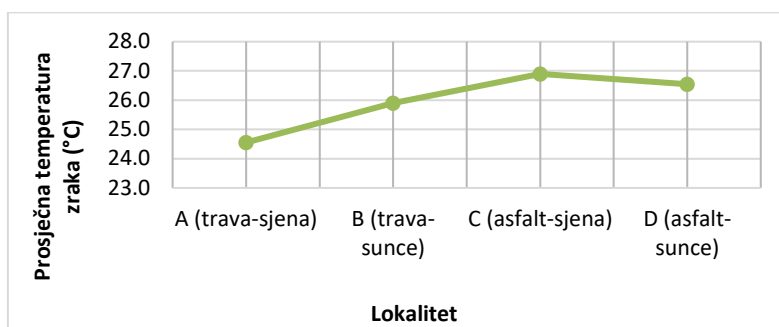
Slika 6 Lokalitet C (sjena zgrade) u centru grada Jastrebarskog tijekom sva četiri godišnja doba na asfaltnoj podlozi



Slika 7 Lokalitet D (direktno sunčevo zračenje) tijekom sva četiri godišnja doba na asfaltnoj podlozi

REZULTATI

Istraživanje je ukupno obuhvatilo 73 mjerenja temperatura zraka tijekom jedne godine. Prvo mjerenje temperature zraka na svim postajama bilo je 4. veljače 2017. godine, a posljednje 1. veljače 2018. godine. Slika 8 prikazuje prosječnu temperaturu zraka tijekom toplijih mjeseci na svakom od pojedinih lokaliteta. Prosječna temperatura zraka izračunata je tako što su zbrojene sve izmjerene temperature od 2. travnja do 24. rujna 2017. i podijeljene s brojem mjerenja (Slika 8). Prosječna temperatura zraka za vrijeme toplijih mjeseci iznosi 26 °C.



Slika 8 Prosječne temperatura zraka na pojedinim lokalitetima tijekom toplijih mjeseci (travanj-rujan)

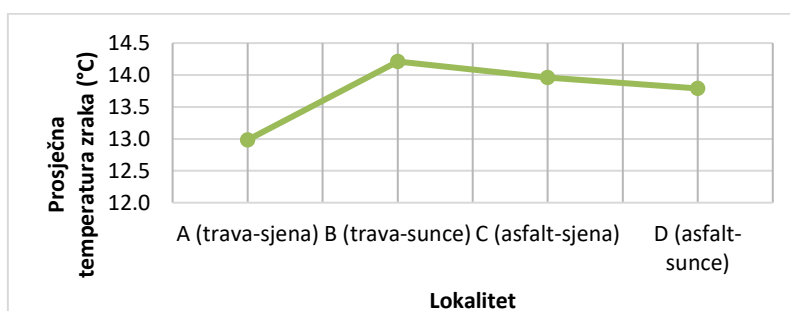
U tablici 1 prikazano je koliko prosječna temperatura zraka u razdoblju od 2. travnja do 24. rujna 2017. godine na pojedinom lokalitetu odstupa od izračunate prosječne temperature zraka za navedeno razdoblje (Tablica 2).

$$\text{Odstupanje} = t_{\text{lokalitet}} - 26\text{ }^{\circ}\text{C}$$

Tablica 2 Odstupanje temperature zraka pojedinog lokaliteta od prosječne temperature zraka cijelog grada u razdoblju od 2. travnja do 24. rujna 2017.

Lokaliteti	A (park-sjena)	B (park-sunčevo zračenje)	C (centar-sjena)	D (centar-sunčevo zračenje)
Odstupanje (°C)	-1,4	-0,1	+0,9	+0,5

Slika 9 prikazuje prosječnu temperaturu zraka tijekom hladnijih mjeseci na svakom od pojedinih lokaliteta. Prosječna temperatura zraka je izračunata tako što su zbrojene sve izmjerene temperature na pojedinom lokalitetu za zimski period od prvog mjerenja koje je bilo 4. veljače do 28. ožujka 2017. i od 4. listopada 2017. do zadnjeg mjerenja, 1. veljače 2018. te podijeljene s ukupnim brojem mjerenja (Slika 9). Prosječna temperatura zraka za zimske mjeseci iznosi 13,7 °C.



Slika 9 Prosječne temperatura zraka na pojedinim lokalitetima tijekom hladnijih mjeseci (listopad-veljača)

Tablica 3 prikazuje odstupanje prosječne temperature zraka u razdoblju 4. veljače do 28. ožujka 2017. te od 4. listopada 2017. do 1. veljače 2018. na pojedinom lokalitetu od izračunate prosječne temperature zraka za navedeno razdoblje (Tablica 3).

$$\text{Odstupanje} = t_{\text{lokalitet}} - 13,7\text{ }^{\circ}\text{C}$$

Tablica 3 Odstupanje temperature zraka pojedinog lokaliteta od prosječne temperature zraka cijelog grada u razdoblju od 4. veljače do 28. ožujka 2017. i od 4. listopada 2017. do 1. veljače 2018.

Lokaliteti	A (park-sjena)	B (park-sunčevo zračenje)	C (centar-sjena)	D (centar-sunčevo zračenje)
Odstupanje (°C)	-0,7	+0,5	+0,3	+0,1



Također je izračunato kolika je prosječna temperatura zraka na prirodnoj travnatoj podlozi i na umjetnoj asfaltnoj podlozi koje su izložene direktnom sunčevom zračenju za vrijeme ljetnog i zimskog razdoblja (Tablica 4). Svi navedeni podaci izračunati su u programu MS Office Excel 2007.

Tablica 4 Prosječna temperatura zraka na određenoj vrsti podloge izloženoj direktnom sunčevom zračenju za vrijeme zimskog i ljetnog perioda

Vrsta podloge	Prosječna temperatura zraka u zimskom periodu	Prosječna temperatura zraka u ljetnom periodu
Travnata - lokalitet B	14,2 °C	25,9 °C
Asfaltna - lokalitet D	13,8 °C	26,5 °C

RASPRAVA

Najniža temperatura zraka je na lokalitetu A u parku u sjeni drveća (Slika 8), a najviša na lokalitetu C u centru grada u sjeni zgrade čime se moja pretpostavka pokazala točnom. Razlog tome je tzv. efekt kanjona - gradnja uskih gradskih ulica omeđenih visokim zgradama koje izgledaju upravo poput kanjona, a apsorbiraju sunčevu toplinu i pospešuju porast temperature zraka, a uz to zgrade sprječavaju strujanje i miješanje zraka. Isto tako povećanjem broja cesta i parkirališta smanjuje se brojnost vegetacije na pojedinim područjima, što također utječe na porast temperature. Slično istraživanje radio je znanstvenik Gomez u kojem je mjerio i uspoređivao temperature zraka tijekom ljetnih mjeseci s dviju meteoroloških postaja u trećem po veličini španjolskom gradu Valenciji (Gomez, 1998.). Jedna postaja bila je u parku, a druga u centru grada. Izmjereno je da u parku prosječna temperatura zraka iznosi 17,3 °C, dok prosječna temperatura zraka u centru Valencije iznosi 23,6 °C (Gomez, 1998.). Prema dobivenim podacima zaključio je da u Valenciji postoji toplinski otok jer zadovoljava uvjet minimalne temperaturne razlike između prosječne temperature zraka i prosječne temperature zraka pojedinog lokaliteta (MHI). Oke je 1988. mjerio temperaturu zraka u 11 najvećih europskih gradova te došao do funkcije koja ovisi o broju stanovnika u nekom gradu - promjenljivoj varijabli P (Oke, 1988.): $MHI = 2.01 \log P - 4,06$ [°C]. Prema navedenoj funkciji minimalna izmjerena razlika temperature (MHI) pojedinog lokaliteta od prosječne temperature zraka u gradu Jastrebarskom, sa svega 6 000 stanovnika, trebala bi iznositi 3,5 °C kako bi se dokazalo postojanje urbanog toplinskog otoka. Prema Tablici 2 u gradu nema MHI tijekom toplijih mjeseci. Slika 9 prikazuje izmjerene prosječne temperature zraka na lokalitetima tijekom hladnijih mjeseci. Najviša prosječna temperatura zraka je na lokalitetu B u parku Erdödy na travnjaku koji je izložen direktnom sunčevom zračenju dok su temperature zraka na lokalitetima u centru grada bile za nekoliko stupnjeva niže. Moja pretpostavka da će tijekom hladnijih mjeseci temperatura zraka u centru grada biti viša, nego prosječna temperatura zraka u parku ovim mjerenjima pokazala se krivom. Iste rezultate tijekom svog istraživanja dobio je Gomez u gradu Valenciji. U Viveros parku prosječna temperatura zraka iznosila je 15 °C, a u užem centru iznosila je 12,3 °C tijekom zimskih mjeseci. Razlog tomu je gusta krošnja drveća koja apsorbira dio sunčeve topline, a i travnata podloga se sporije hladi i sporije zagrijava te zbog toga duže zadržava količinu topline od asfalta koji se brzo grije, ali i brzo hladi. Prema Tablici 3 u gradu Jastrebarskom nema MHI tijekom hladnijih mjeseci. Također jedan od ciljeva bio je utvrditi postoje li razlike u temperaturi zraka ovisno o vrsti podloge (prirodna travnata podloga/umjetna asfaltna podloga). Tablica 4 prikazuje izračunate prosječne temperature zraka za vrijeme zimskih i ljetnih mjeseci i njihova usporedba ovisno o vrsti podloge. Dobiveni su neočekivani rezultati. Tijekom hladnijih razdoblja najviša temperatura zraka je na travnatoj podlozi dok je na asfaltnoj podlozi niža. Ovi rezultati opovrgnuli su moju pretpostavku,



očekivala sam da će temperatura zraka uvijek biti najveće iznad asfaltne podloge. Velik doprinos tomu daje toplina koju tijekom dana apsorbiraju umjetni materijali kao što su asfalt i beton. Jedan od glavnih razloga ove pojave jest ranije spomenuti specifični toplinski kapacitet kao svojstvo pojedine vrste materijala. Naime, asfalt ima manji specifični toplinski kapacitet nego prirodni okoliš, što znači da brže primi količinu sunčeve topline i pri tome brže poveća temperaturu zraka iznad tla, nego travnata podloga. Isto tako se asfalt tijekom zime brzo ohladi i pri tome ohladi zrak iznad podloge (Oke, 1988.). Tijekom toplijih mjeseci temperatura u centru grada iznad asfaltne podloge očekivano je viša. Tijekom cjelogodišnjeg mjerenja temperatura svega su četiri puta izmjerene temperature zraka u parku i centru grada koje zadovoljavaju navedeni uvjet za postojanje UHI efekta (Prilog 2), ali smatram da je to premali uzorak kako bih mogla utvrditi postojanje toplinskog otoka. Najveća temperaturna razlika iznosi 9,3 °C izmjerena 14. veljače 2017. između lokaliteta B u parku izložen direktnom suncu i lokaliteta C u centru grada u sjeni. Prema dobivenim rezultatima nakon mjerenja temperatura mogu utvrditi da u gradu Jastrebarskom nema UHI efekta. Jedan od razloga tomu je zelena površina parka Erdödy koja utječe na temperaturu zraka unutar samog centra grada. Isto tako za postojanje UHI efekta je bitna veličina zgrada (Gomez, 1998.). Zgrade u centru grada kao što je vidljivo na Slici 6 su visoke svega nekoliko katova i to nije dovoljno da uzrokuju već ranije spomenut efekt kanjona, a posađena su pojedinačna stabla oko nekih zgrada (Slika 7) koja zasjenjivanjem imaju povoljan učinak na smanjenje utjecaja toplinskih otoka koji su prisutni u velikim gradovima. Smatram da su gradski parkovi i zelenilo važan prirodan resurs i izvor dodatnih vrijednosti svakoga grada te sam ovim radom htjela ukazati i potaknuti ljude koji vode grad koliko je važno da u budućnosti promišljeno planiraju sadnju stabala i zelenih površina u gradu. Na taj način dugoročnim mjerama mogu svojim građanima, a posebno djeci omogućiti udobniji zdraviji život naročito sada, u vremenima globalne urbanizacije koja je sve izraženija.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja može se zaključiti:

- ✱ U gradu Jastrebarskom ne postoji UHI efekt zbog nedovoljno velikih razlika između prosječne temperature zraka za navedeno razdoblje i prosječne temperature zraka pojedinog lokaliteta.
- ✱ Temperatura zraka iznad asfaltne podloge veća je od temperature zraka iznad travnate podloge tijekom toplijih mjeseci, dok je temperatura zraka iznad asfaltne podloge manja od temperature zraka iznad travnate podloge tijekom hladnijih mjeseci.
- ✱ Tijekom toplijih mjeseci temperatura zraka je viša u urbanom okruženju, dok je tijekom hladnijih mjeseci ona viša u prirodnom okruženju.

Ovakva mjerenja i istraživanja potrebno je provoditi u budućnosti radi dobrobiti svih građana koji žive u gradu Jastrebarskom, ali i šire.

LITERATURA

Bečki plan za smanjenje vrućina u gradu, 2016.

http://www.vienna.hr/hr/becki_plan_za_smanjenje_vrucina_u_gradu/159/16, pristupljeno 20.11.2017.

Likić, J., 2009. Urbani toplinski otoci; <http://biologija.com.hr/modules/AMS/article.php?storyid=360>, pristupljeno 5.11.2017.

Gajić – Čapka, M. i Zaninović, K., 2000. Klima Hrvatske, DHMZ; <http://klima.hr/klima.phpb>, pristupljeno 7.11.2017.

Gomez, F., 1998. Vegetation and climatic changes; Ecological Engineering,

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925857498000020>, pristupljeno 28.2.2018.



Lučić, I., 2015., Znete li što je „toplinski otok“ u gradu i zašto je tamo par stupnjeva toplije?, <http://www.google.hr/amp/amp.index.hr/article/831577/znete-li-sto-je-toplinski-otok-u-gradu-i-zasto-je-tamo-par-stupnjeva-toplije>, pristupljeno 7.11.2017.

Oke, T. R., 1988. Boundary Layer climates, <http://bayanbox.ir/view/6693893538424427706/T.-R.-Oke-Boundary-Layer-Climates-Second-Editio-BookFi.org.pdf>, pristupljeno 28.2.2018.

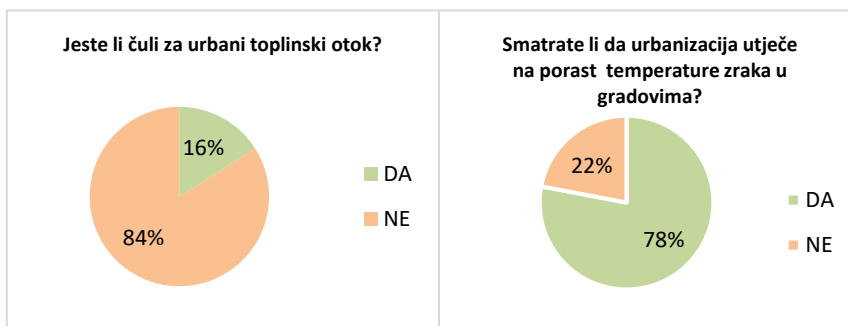
Roščak R., 2014., Ekologija i održivi razvoj - udžbenik za prvi razred srednje strukovne škole, Školska knjiga, Zagreb

PRILOZI

Prilog 1 Provedena je anketa koliko su sugrađani u mojem gradu informirani o UHI efektu. U anketi je ukupno sudjelovalo 50 ispitanika: dio su bili sugrađani koje smo anketirali slučajnim odabirom na cesti (25), a dio su bili učenici moje škole (25)

Anketni listić

PITANJA	Zaokruži odgovor	
Jeste li čuli za urbani toplinski otok?	DA	NE
Smatrate li da urbanizacija utječe na porast temperature zraka u centru grada?	DA	NE



Prolog 2 Izmjerene temperature na svim lokalitetima tijekom jedne godine

br. mjer enja	datum	h	PRIRODNO OKRUŽENJE		URBANO OKRUŽENJE		Prosječna temperatura	t(B)-t(C)
			A	B	C	D		
1.	4.2.2017	12:10	11,2	18,3	17,3	17,1	15,98	1,0
2.	9.2.2017	14:08	0,9	1,2	1,3	1,3	1,18	-0,1
3.	14.2.2017	12:33	6,1	15,6	6,3	9,6	9,40	9,3
4.	20.2.2017	14:07	11,9	15,9	18,7	19,1	16,40	-2,8
5.	25.2.2017	12:41	5,3	13,4	16,3	10,7	11,43	-2,9
6.	2.3.2017	12:33	13,7	14,8	13,3	13,2	13,75	1,5
7.	8.3.2017	13:30	10,7	11,3	11,6	11,5	11,28	-0,3
8.	12.3.2017	12:06	10,9	13,3	18,9	12,4	13,88	-5,6
9.	17.3.2017	11:56	19,7	23,6	23,1	23,9	22,58	0,5
10.	23.3.2017	14:12	23,0	25,1	23,7	28,4	25,05	1,4
11.	28.3.2017	11:30	22,1	23,0	22,9	22,8	22,70	0,1
12.	2.4.2017	12:03	27,1	29,6	27,4	29,8	28,48	2,2
13.	8.4.2017	11:53	22,8	23,5	23,5	23,4	23,30	0,0
14.	13.4.2017	12:26	19,5	29,4	28,9	26,5	26,08	0,5
15.	18.4.2017	12:16	8,9	9,0	8,7	8,6	8,80	0,3
16.	23.4.2017	12:05	11,0	14,8	16,1	15,3	14,30	-1,3
17.	28.4.2017	11:51	12,2	15,9	18,1	16,8	15,75	-2,2
18.	3.5.2017	14:11	19,9	20,3	20,7	20,6	20,38	-0,4
19.	9.5.2017	11:58	14,6	14,7	14,8	14,5	14,65	-0,1
20.	15.5.2017	12:03	12,2	13,5	13,5	13,2	13,10	0,0
21.	20.5.2017	12:08	21,2	21,3	21,0	20,9	21,10	0,3
22.	26.5.2017	12:55	27,2	28,1	33,5	33,5	30,58	-5,4
23.	31.5.2017	14:12	29,5	29,6	30,3	30,1	29,88	-0,7
25.	6.6.2017	12:47	29,9	30,3	33,0	33,1	31,58	-2,7
26.	11.6.2017	12:10	26,3	26,8	27,2	27,0	26,83	-0,4
27.	16.6.2017	13:35	25,5	26,1	27,0	26,4	26,25	-0,9
28.	21.6.2017	12:05	34,3	34,7	35,1	34,9	34,75	-0,4



br. mjer enja	datum	h	A	B	C	D	Prosječna temperatura	t(B)-t(C)
29.	26.6.2017	12:40	27,7	28,2	34,1	33,7	30,93	-5,9
30.	1.7.2017	13:40	33,1	33,9	35,1	35,0	34,28	-1,2
31.	6.7.2017	12:05	29,2	37,3	37,3	38,1	35,48	0,0
32.	11.7.2017	12:00	28,3	29,2	31,2	29,9	29,65	-2,0
33.	16.7.2017	11:40	26,4	27,1	29,0	27,8	27,58	-1,9
34.	21.7.2017	12:01	32,7	33,2	34,4	33,8	33,53	-1,2
35.	26.7.2017	11:47	24,0	25,2	27,3	25,8	25,58	-2,1
36.	31.7.2017	11:58	32,2	33,4	34,6	34,3	33,63	-1,2
37.	5.8.2017	12:36	35,1	36,4	37,6	37,4	36,63	-1,2
38.	10.8.2017	12:32	37,2	37,8	39,0	38,6	38,15	-1,2
39.	15.8.2017	12:17	35,2	35,8	38,6	38,3	36,98	-2,8
40.	20.8.2017	12:30	36,9	37,5	38,1	37,7	37,55	-0,6
41.	25.8.2017	12:46	30,1	31,7	33,5	33,1	32,10	-1,8
42.	30.8.2017	11:47	25,1	25,6	27,3	26,9	26,23	-1,7
43.	4.9.2017	13:01	21,9	22,6	23,1	22,8	22,60	-0,5
44.	9.9.2017	12:09	26,5	28,0	28,6	28,3	27,85	-0,6
45.	14.9.2017	11:52	13,9	14,3	14,1	13,7	14,00	0,2
46.	19.9.2017	12:03	11,8	12,4	12,1	11,6	11,98	0,3
47.	24.9.2017	11:57	16,3	16,4	16,1	16,2	16,25	0,3
48.	29.9.2017	12:13	18,2	18,7	18,4	17,9	18,30	0,3
49.	4.10.2017	12:31	15,3	15,5	15,4	14,9	15,28	0,1
50.	9.10.2017	11:59	12,5	12,9	12,8	12,3	12,63	0,1
51.	14.10.2017	12:26	18,0	18,4	18,4	17,7	18,13	0,0
52.	19.10.2017	11:59	19,5	20,1	19,9	19,2	19,68	0,2
53.	24.10.2017	14:09	11,6	12,3	12,0	11,4	11,83	0,3
54.	29.10.2017	11:47	17,8	17,8	17,6	17,5	17,68	0,2
55.	3.11.2017	11:56	18,5	18,6	18,1	18,2	18,35	0,5
56.	8.11.2017	11:57	17,8	17,9	17,2	17,3	17,55	0,7
57.	13.11.2017	12:23	16,5	16,6	16,2	16,3	16,40	0,4
58.	18.11.2017	11:58	15,5	15,6	15,2	15,3	15,40	0,4
59.	23.11.2017	12:11	15,3	15,4	14,9	15,1	15,18	0,5
60.	28.11.2017	12:25	9,2	9,4	8,8	8,9	9,08	0,6
61.	3.12.2017	12:23	8,5	8,6	8,2	8,3	8,40	0,4
62.	8.12.2017	12:03	7,8	7,9	7,6	7,6	7,73	0,3
63.	13.12.2017	12:20	9,7	9,7	9,3	9,5	9,55	0,4
64.	18.12.2017	11:59	11,9	12,0	11,7	11,8	11,85	0,3
65.	23.12.2017	11:53	14,3	14,5	14,1	14,2	14,28	0,4
66.	28.12.2017	11:59	13,2	13,2	12,9	13,0	13,08	0,3
67.	2.1.2018	11:58	10,8	10,8	10,6	10,7	10,73	0,2
68.	7.1.2018	11:48	12,1	12,2	11,8	11,9	12,00	0,4
69.	12.1.2018	12:16	13,0	13,1	12,7	12,8	12,90	0,4
70.	17.1.2018	11:23	11,4	11,5	11,2	11,3	11,35	0,3
71.	22.1.2018	11:58	12,9	12,9	12,7	12,7	12,80	0,2
72.	27.1.2018	12:15	10,3	10,6	10,8	10,0	10,43	-0,2
73.	1.2.2018	12:22	8,5	8,6	9,0	8,5	8,65	-0,4

FAUNA DANJH LEPTIRA (LEPIDOPTERA: RHOPALOCERA) NA PODRUČJU TUROPOLJA

Marija Perović, 4. razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: Romana Halapir Franković

SAŽETAK

Istraživanje faune danjih leptira (Lepidoptera: Rhopalocera) na području Turopolja provedeno je u razdoblju od početka svibnja do kraja kolovoza 2017. godine na tri lokaliteta. Cilj ovoga rada je istražiti faunu danjih leptira tri livadna lokaliteta na području Turopolja i tako provjeriti je li se broj vrsta u zadnjih nekoliko godina smanjio te time doprinjeti poznavanju raznolikosti faune Turopolja. Posebice želimo potaknuti njeno istraživanje i zaštitu. Zabilježeno je 616 jedinki i utvrđeno je 45 vrsta danjih leptira, koje su svrstane u šest porodica: Nymphalidae- 23, Lycaenidae- 9, Pieridae- 5, Hesperidae- 4, Papilionidae- 3 i Riodinidae- 1. Na istraživanom području utvrđene su zaštićene i gotovo ugrožene (NT) vrste danjih leptira *Lycaena dispar* (Haworth, 1803), *Papilio machaon* Linnaeus, 1758 i *Zerynthia polyxena* (Denis et Schiffermüller, 1775) koje se nalaze na Crvenoj listi Europskih vrsta i u Crvenoj knjizi danjih leptira Hrvatske. Za svaku vrstu izražena je frekvencija s obzirom na njihovu pojavnost na lokalitetima.

Glavne riječi: determinacija, porodice, zaštićene vrste

UVOD

Kukci (Insecta) su najbrojniji razred grupe člankonožaca koji obuhvaća više vrsta nego sve ostale životinjske skupine zajedno. Od posebno velike su važnosti u prirodi jer oprašivanje većine cvjetnica ovisi o njima. Također, kako su plodovi cvjetnica česta hrana raznim drugim organizmima, da nema kukaca posredno ne bi bilo ni mnogih oblika života koje danas poznajemo. Najčešći oprašivači su kukci iz redova opnokrilaca (Hymenoptera), dvokrilaca (Diptera), kornjaša (Coleoptera) i leptira (Lepidoptera).

Leptiri su jedan od najpoznatijih i najistraženijih redova kukaca i obuhvaćaju oko 210 000 vrsta svrstanih u stotinjak porodica, od kojih od kojih su danji leptiri u Europi predstavljeni porodicama: lastinrepci (Papilionidae), bijelci (Pieridae), plavci (Lycaenidae), pjegavci (Riodinidae), šarenci (Nymphalidae) i debeloglavci (Hesperidae) (Kučinić i sur., 2014). U sistematici leptira koristi se nekoliko podjela od kojih valja napomenuti sljedeće dvije: prva podjela uzima u razmatranje vrijeme aktivnosti leptira, pa ih dijelimo na vrste koje su aktivne danju - danje leptire (Rhopalocera) i vrste koje su aktivne noću - noćne leptire (Heterocera) (Kučinić i Plavac, 2009). Druga podjela kao kriterije uzima veličinu tijela i prema njoj se leptiri dijele na velike (makrolepidoptera) i male leptire (mikrolepidoptera) (Kučinić i Plavac, 2009).

Leptiri su skupina kukaca koja je gotovo potpuno prilagođena na život u kopnenim staništima, a samo gusjenice malog broja vrsta naseljavaju kopnene vodene biotope. S obzirom na to koje stanište preferiraju, postoje higrofilne (preferiraju vlažne tipove staništa- npr. močvare), kserofilne (preferiraju suhe tipove staništa), livadne (higrofilne livade, kserofilne livade, košarice i pašnjaci), šumske i vrtne vrste - preferiraju antropogeni tip staništa (Kučinić i Plavac, 2009).

U posljednje vrijeme i u Hrvatskoj je sve izraženiji čovjekov negativni utjecaj koji se ogleda posebice u nestanku livadnih staništa zbog prestanka tradicionalnih poljodjeljskih aktivnosti (stočarstvo, ispaša, košnja), ali i zbog velike uporabe pesticida i herbicida, gradnje prometnica i naselja, hidromelioracijskih

zahvata, neplanskog širenja obradivih površina i dr. (Kučinić i Plavac, 2009). Mnoga područja izložena su jakim antropogenim utjecajima, pa tako i Turopolje. Onečišćeni zrak, voda i tlo predstavljaju veliku opasnost za šume i livade koje su važna staništa brojnim biljnim i životinjskim vrstama, pa tako i leptirima. Pojedine vrste leptira opstale su u novonastalim uvjetima, međutim većina to nije uspjela te je to rezultiralo ozbiljnim smanjenjem broja ili čak nestankom određenih vrsta na području Europe. U Hrvatskoj je jedan od osnovnih uzroka mogućega nestanka danjih, a i drugih vrsta leptira iz mnogih područja, nestanak pašnjaka zbog napuštanja tradicionalnog stočarstva, koje se zasnivalo na ispaši koza, krava, ovaca te prestanak košnje livada košanica (Kučinić i Plavac, 2009). Livade su postale ovisne o čovjeku i ukoliko ih čovjek ne održava, to jest ne kosi, doći će do njihovog zaraštanja i nestanka, a njihovim nestankom nestaje i fauna, ne samo leptira, već svih kukaca koji su tamo obitavali.

Cilj ovoga rada je proučiti faunu danjih leptira na području Turopolja i usporediti rezultate s prijašnjim istraživanjima te doprinjeti poznavanju raznolikosti faune Turopolja. Posebice želimo potaknuti njeno istraživanje i zaštitu.

Pretpostavljeno je da se broj vrsta leptira u odnosu na prethodna istraživanja, zbog antropogenih utjecaja i sukcesije livada smanjio.

METODE RADA

Istraživanje je provedeno u razdoblju od 6. svibnja do 26. kolovoza 2017. godine na području Turopolja na tri lokaliteta (slika 1, 2 i 3): „Peščenica“, „Prkovec“ i „Turopoljski lug“.



Slika 1 Prkovec (foto. M. Perović)



Slika 2 Peščenica (foto. M. Perović)



Slika 3. Turopoljski lug (foto. M. Perović)

Turopolje je ravničarski prostor koji se nalazi između Posavine (močvarne nizine uz rijeku Savu) i Vukomeričkih gorica (nisko uravnjeno gorje), a na jugu prelazi u Odransko polje i zauzima površinu od oko 600 km². Odransko polje močvarno je područje, a klima je topla i vlažna; prosječna ljetna temperatura iznosi oko 23 °C, a prosječna godišnja količina padalina iznosi 900–1000 mm što objašnjava bogatu vegetaciju tog područja, preko 500 biljnih vrsta (Drvodelić, 1999). U Turopolju razlikujemo više tipova staništa: šumu, šumske proplanke, grmlje, živicu uz puteve i na putevima, livade i vlažne livade, livade uz obradive površine, nasipe kanala i uz kanale, močvarna vlažna staništa i obale, rubove kanala i stajaćih voda te vodena staništa. Pojedine leptire nalazimo na svim navedenim tipovima staništa (Kučinić i sur., 2014). Najveći broj leptira ipak živi na livadama koje su, nažalost, jedan od najugroženijih tipova staništa u Europi i Hrvatskoj.

Odabrani lokaliteti prikazani na slici 4 različitog su stanišnog tipa, a osnovni podaci o njima prikazani su u tablici 1.



Slika 4 karta istraživanog područja (crveno- „Prkovec“, ljubičasto- „Peščenica“, plavo- „Turopoljski lug“)

Ni jedan od lokaliteta nije zaštićeno područje. Lokaliteti su obilježeni od početka svibnja do kraja kolovoza radi aktivnosti leptira.

Na svakom lokalitetu određene su neke od najčešćih biljaka značajnih za leptire. Biljke su determinirane na temelju morfoloških karakteristika pomoću ključa za determinaciju (Stichmann-Marny i Kretzschmar, 2000).

Tablica 1 Osnovni podaci o livadama (koordinate i nadmorska visina su izmjereni pomoću GPS sustava na mobitelu)

LOKALITETI	PEŠČENICA	TUROPOLJSKI LUG	PRKOVEC
KOORDINATE	45 °35 '45 "N i 16 °10 '29 "E	45 °38 '1 "N i 16 °12 '38 "E	45 °33 '55 " N i 16 °5 '37 "E
NADMORSKA VISINA	106,06m	96,20m	215,14m
DATUMI POSJEĆIVANJA	6.5., 20.5., 10.6., 25.6., 11.7., 25.7, 9.8., 24.8.	12.5., 21.5., 10.6., 24.6., 10.7., 26.7., 10.8., 26.8.	6.5., 21.5., 11.6., 24.6., 11.7., 25.7., 9.8., 25.8.
KARAKTERISTIČNA VEGETACIJA	crvena djetelina (<i>Trifolium pratense</i>), lucerna (<i>Medicago sativa</i>), žuti kokotac (<i>Melilotus officinalis</i>)	mali zimzelen (<i>Vinca minor</i>), drijemovac (<i>Leucoium vernum</i>), vodoljub (<i>Butomus umbellatus</i>)	Trnina (<i>Prunus spinosa</i>), kopar (<i>Anethum graveolens</i>) i livadna režuha (<i>Cardamine pratensis</i>)
TEMPERATURA*	21 °C – 37 °C	20 °C – 35 °C	20 °C – 34 °C
VELIČINA LIVADE	34m x 26m	52m x 34m	47m x 31m

* izmjereni raspon temperatura na staništima tijekom razdoblja istraživanja

Lokalitet „Prkovec“ je pretežno šumsko područje, ali za istraživanja uzeta je livada koja je okružena šumom bukve i hrasta lužnjaka. Livada je tijekom istraživanja košena jednom u srpnju. Rubovi livade bili su slabo osvijetljeni dok je na središnjem dijelu livade osvijetljenost bila velika.

Lokalitet „Peščenica“ je specifičan po tome što se nalazi uz kanal koji navodnjava livadu, te uz obradivu površinu, kukuruzište, koje također utječe na sastav faune leptira te livade. Livada je košena jednom u kolovožu.

Lokalitet „Turopoljski lug“ je livada uz šumu te je veoma blizu rijeke Odre. Ovo livadno područje okruženo je šumom hrasta lužnjaka, bukve i graba. Nalazi se svega par kilometara od rijeke Odre što utječe na razinu podzemnih voda na tom području, a samim time i na vlažnost livade i njenu floru i faunu. Livada nije košena nijednom tijekom godine što je otežavalo prikupljanje podataka krajem kolovoza.

Pribor i metodologija

Prva faza istraživanja je uzorkovanje jedinki leptira koje se obavljalo dva puta mjesečno na tri navedena lokaliteta. Uzorkovanje se provodilo za toplih i sunčanih dana bez prisustva vjetra od 13 do 17 sati kada

im je aktivnost najveća. Zadržavanje na lokalitetima iznosilo je u prosjeku dva sata. Uzorkovanja su obavljana standardnom metodom prikupljanja odraslih jedinki entomološkom mrežicom, promatranjem i fotografiranjem leptira (Kučinić i Plavac 2009). Pribor za uzorkovanje leptira sastojao se od entomološke mrežice kućne izrade i staklenki u koje su stavljani neki uhvaćeni uzorci koji su kasnije preparirani. Tijekom cijelog istraživanja izrađivana je i fotodokumentacija.

Tijekom istraživanja mjereni su, za leptire značajniji abiotički čimbenici, temperatura i svjetlost. Temperatura zraka mjerena je alkoholnim termometrom 0 - 60 °C na visini 1,5 m iznad tla. Na svakom lokalitetu izvršena su tri mjerenja neposredno nakon dolaska na teren i tri neposredno prije odlaska s livade. Za konačni iznos temperature uzeta je srednja vrijednost svih mjerenja. Na svakoj lokaciji određena je relativna količina svjetlosti na način da je procijenjeno osvjetljenje raspoređeno u tri kategorije: mala, srednja i velika količina svjetlosti.

Druga faza istraživanja je prepariranje nekih uhvaćenih jedinki uz pomoć entomoloških iglica različitih veličina (veličina iglice ovisi o veličini jedinke koja se preparira), papirnatih trakica i postolja od stiropora. Postupak prepariranja prikazan je na slici 1. Tijelo leptira se najprije umeće u prorez stiropora, zatim se krila leptira šire i fiksiraju sa uskim trakama papira i pribadačama u željeni položaj (Kučinić i Plavac 2009).



Slika 5 Raspelice s prepariranim leptirima (foto. Marija Perović)

Treća faza je determinacija ulovljenih jedinki leptira na temelju morfoloških karakteristika prema terenskom priručniku (Tolman i Lewington, 2008). Krila danjih leptira su djelomično ili potpuno prekrivena ljuskastim dlačicama i ljuskama raznih boja, veličina i oblika, što je ključno pri njihovoj determinaciji. Dio leptira je determiniran na terenu odmah nakon što su uhvaćeni te su nakon determinacije pušteni, a vrste su zabilježene. Ostali su determinirani nakon prepariranja na temelju morfoloških karakteristika i pohranjeni su u entomološkoj zbirci. Sistematika (nazivi porodica, rodova i vrsta) je praćena na internetskoj bazi „Fauna Europaea“.

Analiza prikupljenog materijala

Prikupljeni materijali sistematizirani su i utvrđeno je postojanje razlika u frekvenciji pojavljivanja raznih vrsta leptira između triju lokaliteta. Pomoću χ^2 kvadrat testa izračunat je nivo sigurnosti, odnosno statistička značajnost (Grubišić, 2004).

Frekvencija pojavljivanja vrsta (C%)

S obzirom na broj lokaliteta na kojima je pojedina vrsta nađena, može se za svaku vrstu izračunati indeks frekventivnosti pomoću formule:

$$C = Na / N \times 100$$

gdje je Na – broj lokaliteta na kojima se pojavljuje vrsta a, N je ukupan broj istraživanih lokaliteta.



Prema vrijednosti indeksa frekventnosti leptiri se dijele na rijetke vrste ($C < 50\%$) i česte vrste ($C \geq 50\%$) (Ivanšić, 2015).

Hi kvadrat (χ^2) test

Na temelju prethodnog istraživanja „Ekoloski i prostorni značaj Turopoljskog luga“ koje je proveo Drvodelić (1999) određen je mogući broj vrsta na pojedinom lokalitetu. Ti podaci prikazani su u tablici 4. Pomoću tablice se izračuna granična vrijednost i stupanj slobode. Granična vrijednost računa se pomoću formule:

$$\chi^2 = \sum (Nm - N_k)^2 / N$$

gdje je N_m mogući broj vrsta, N_k konačni broj vrsta dobiven obradom rezultata, a N ukupna vrijednost.

Stupanj slobode računamo preko tablice: (broj redova - 1) x (broj stupaca - 1). Pomoću dobivenih vrijednosti ćemo na kraju iz tablice graničnih vrijednosti (slika 6.) iščitati nivo sigurnosti u postotcima te tako potvrditi ili opovrgnuti hipotezu o smanjenju broja vrsta u odnosu na prijašnja istraživanja.

ν	.995	.99	.975	.95	.90	.10	.05	.025	.01	.005
1	0.000	0.000	0.001	0.004	0.016	2.706	3.843	5.025	6.637	7.882
2	0.010	0.020	0.051	0.103	0.211	4.605	5.992	7.378	9.210	10.597
3	0.072	0.115	0.216	0.352	0.584	6.251	7.815	9.348	11.344	12.837
4	0.207	0.297	0.484	0.711	1.064	7.779	9.488	11.143	13.277	14.860
5	0.412	0.554	0.831	1.145	1.610	9.236	11.070	12.832	15.085	16.748
6	0.676	0.872	1.237	1.635	2.204	10.645	12.592	14.440	16.812	18.548
7	0.989	1.239	1.690	2.167	2.833	12.017	14.067	16.012	18.474	20.276
8	1.344	1.646	2.180	2.733	3.490	13.362	15.507	17.534	20.090	21.954
9	1.735	2.088	2.700	3.325	4.168	14.684	16.919	19.022	21.665	23.587
10	2.156	2.558	3.247	3.940	4.865	15.987	18.307	20.483	23.209	25.188
11	2.603	3.053	3.816	4.575	5.578	17.275	19.675	21.920	24.724	26.755
12	3.074	3.571	4.404	5.226	6.304	18.549	21.026	23.337	26.217	28.300
13	3.565	4.107	5.009	5.892	7.041	19.812	22.362	24.735	27.687	29.817
14	4.075	4.660	5.629	6.571	7.790	21.064	23.685	26.119	29.141	31.319
15	4.600	5.229	6.262	7.261	8.547	22.307	24.996	27.488	30.577	32.799
16	5.142	5.812	6.908	7.962	9.312	23.542	26.296	28.845	32.000	34.267
17	5.697	6.407	7.564	8.682	10.085	24.769	27.587	30.190	33.408	35.716
18	6.265	7.015	8.231	9.390	10.865	25.989	28.869	31.526	34.805	37.156
19	6.843	7.632	8.906	10.117	11.651	27.203	30.143	32.852	36.190	38.580
20	7.434	8.260	9.591	10.851	12.443	28.412	31.410	34.170	37.566	39.997
21	8.033	8.897	10.283	11.591	13.240	29.615	32.670	35.478	38.930	41.399
22	8.643	9.542	10.982	12.338	14.042	30.813	33.924	36.781	40.289	42.796
23	9.260	10.195	11.688	13.090	14.848	32.007	35.172	38.075	41.637	44.179
24	9.886	10.856	12.401	13.848	15.659	33.196	36.415	39.364	42.980	45.558
25	10.519	11.523	13.120	14.611	16.473	34.381	37.652	40.646	44.313	46.925
26	11.160	12.198	13.844	15.379	17.292	35.563	38.885	41.923	45.642	48.290
27	11.807	12.878	14.573	16.151	18.114	36.741	40.113	43.194	46.962	49.642
28	12.461	13.565	15.308	16.928	18.939	37.916	41.337	44.461	48.278	50.993
29	13.120	14.256	16.147	17.708	19.768	39.087	42.557	45.772	49.586	52.333
30	13.787	14.954	16.971	18.493	20.599	40.256	43.773	46.979	50.892	53.672
31	14.457	15.655	17.538	19.280	21.433	41.422	44.985	48.231	52.190	55.000
32	15.134	16.362	18.291	20.072	22.271	42.585	46.194	49.480	53.486	56.328
33	15.814	17.073	19.046	20.866	23.110	43.745	47.400	50.724	54.774	57.646
34	16.501	17.789	19.806	21.664	23.952	44.903	48.602	51.966	56.061	58.964
35	17.191	18.508	20.569	22.465	24.796	46.059	49.802	53.203	57.340	60.272
36	17.887	19.233	21.336	23.269	25.643	47.212	50.998	54.437	58.619	61.581
37	18.584	19.960	22.105	24.075	26.492	48.363	52.192	55.667	59.891	62.880
38	19.289	20.691	22.878	24.884	27.343	49.513	53.384	56.896	61.162	64.181
39	19.994	21.425	23.654	25.695	28.196	50.660	54.572	58.119	62.426	65.473
40	20.706	22.164	24.433	26.509	29.050	51.805	55.758	59.342	63.691	66.766

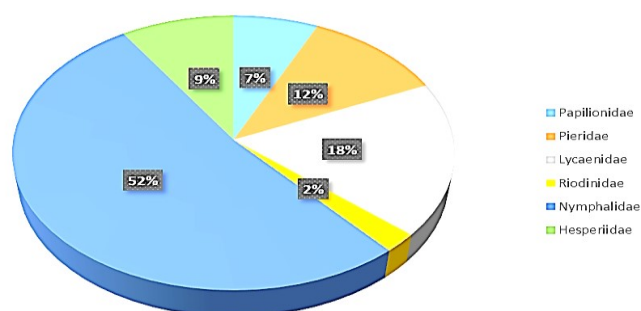
Slika 6 Tablica graničnih vrijednosti kod hi kvadrata (Grubišić, 2004)

REZULTATI

Najčešće drveće i grmlje koje je zabilježeno u turopoljskom području tijekom ovog istraživanja su: hrast lužnjak (*Quercus robur*), grab (*Carpinus betulus*), poljski jasen (*Fraxinus excelsior*), obična vrba (*Salix alba*), topola (*Populus nigra*), bagrem (*Robinia pseudoacacia*), crna joha (*Alnus glutinosa*) i trnina (*Prunus spinosa*), kupina (*Rubus fruticosus*) i divlja ruža (*Rosa camina*).

Među zeljastim biljem zabilježene su sljedeće vrste: vodoljub (*Butomus umbellatus*), kaljužnica (*Caltha palustris*), obični jaglac (*Primula vulgaris*), cigansko perje (*Asclepias syriaca*), žućica (*Cytisus procumbens*), kalina (*Ligustrum vulgare*), ivančica (*Leucanthemum vulgare*), abrovina (*Sambucus ebulus*), livadna režuha (*Cardamine pratensis*), velika kiselica (*Rumex acetosa*) i vučja stopa (*Aristolochia clematitis*), koje su važne biljke hraniteljice velikom broju leptira.

Determinacijom je utvrđeno 45 vrsta danjih leptira koje su svrstane u šest sljedećih porodica: Papilionidae, Pieridae, Lycaenidae, Hesperidae, Nymphalidae, Riodinidae. Prema brojnosti vrsta najzastupljenija porodica je Nymphalidae s 23 vrste, a zatim porodica Lycaenidae s devet vrsta. Porodica Pieridae je zastupljena s pet vrsta, porodica Hesperidae s četiri vrste, porodica Papilionidae s tri vrste, a najmanje je zastupljena porodica Riodinidae s jednom vrstom danjih leptira (slika 7).



Slika 7 zastupljenost (u postocima) pojedinih porodica danjih leptira na području Turopolja tijekom 2017. godine

Kvalitativni i kvantitativni sastav faune danjih leptira

Tijekom navedenog razdoblja istraživanja uzorkovano je 616 jedinki danjih leptira, a razlika u broju uzorkovanih jedinki među lokalitetima je vrlo mala, dok se po broju vrsta lokaliteti ipak u određenoj mjeri razlikuju. Rezultati su prikazani u tablici 2.

Tablica 2 Pojavnost pojedinih vrsta danjih leptira na istraživanim lokalitetima i broj uzorkovanih jedinki

VRSTA	PEŠČENICA	TUROPOLJSKI LUG	PRKOVEC
<i>Aglais io</i> (Linnaeus, 1758)	-	1	-
<i>Araschnia levana</i> (Linnaeus, 1758)	-	5	4
<i>Argynnis adippe</i> (Denis et Schiffermüller, 1775)	-	5	-
<i>Argynnis paphia</i> (Linnaeus, 1758)	-	8	4
<i>Boloria dia</i> (Linnaeus, 1767)	-	1	3
<i>Boloria pales</i> (Denis et Schiffermüller, 1775)	-	4	-
<i>Brenthis daphne</i> (Denis et Schiffermüller, 1775)	-	3	-
<i>Celastrina argiolus</i> (Linnaeus, 1758)	-	2	2
<i>Coenonympha arcania</i> (Linnaeus, 1761)	-	-	2
<i>Coenonympha pamphilus</i> (Linnaeus, 1758)	18	21	19
<i>Cyaniris semiargus</i> (Rottemburg, 1775)	1	-	-
<i>Everes argiades</i> (Pallas, 1771)	1	-	1
<i>Gonepteryx rhamni</i> (Linnaeus, 1758)	-	9	5
<i>Hamearis lucina</i> (Linnaeus, 1758)	-	2	-
<i>Iphiclydes podalirius</i> (Linnaeus, 1758)	1	-	1
<i>Lasiommata megera</i> (Linnaeus, 1767)	-	2	-
<i>Leptidea sinapis</i> (Linnaeus, 1758)	-	49	58
<i>Limenitis camilla</i> (Linnaeus, 1763)	-	-	3
<i>Limenitis reducta</i> Staudinger, 1901	-	-	3
<i>Lycaena dispar</i> (Haworth, 1803)	1	-	-



<i>Lycaena phlaeas</i> (Linnaeus, 1761)	-	2	-
<i>Maniola jurtina</i> (Linnaeus, 1758)	24	10	12
<i>Melanargia galathea</i> (Linnaeus, 1758)	36	6	17
<i>Melitaea phoebe</i> (Denis et Schiffermüller, 1775)	-	2	-
<i>Melicta athalia</i> (Rottemburg, 1775)	-	1	2
<i>Melicta britomartis</i> Assmann, 1847	3	1	1
<i>Minois dryas</i> (Linnaeus, 1764)	1	-	-
<i>Neptis sappho</i> (Pallas, 1771)	-	6	8
<i>Ochlodes venatus</i> (Turati, 1905)	-	-	2
<i>Papilio machaon</i> Linnaeus, 1758	1	1	1
<i>Pararge aegeria</i> (Linnaeus, 1758)	-	3	5
<i>Pieris brassicae</i> Linnaeus, 1758)	4	-	-
<i>Pieris napi</i> (Linnaeus, 1758)	18	7	6
<i>Pieris rapae</i> (Linnaeus, 1758)	24	10	9
<i>Polygonia c-album</i> (Linnaeus, 1758)	-	2	-
<i>Polyommatus icarus</i> (Rottemburg, 1775)	48	23	37
<i>Pyrgus malvae</i> (Linnaeus, 1758)	1	-	-
<i>Pyronia tithonus</i> (Linnaeus, 1771)	1	-	1
<i>Satyrus acaciae</i> (Fabricius, 1787)	1	-	-
<i>Satyrus pruni</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	1
<i>Thecla betulae</i> (Linnaeus, 1758)	-	1	-
<i>Thymelicus lineola</i> (Ochsenheimer, 1808)	-	-	11
<i>Thymelicus sylvestris</i> (Poda, 1761)	10	12	3
<i>Vanessa atalanta</i> (Linnaeus, 1758)	-	1	1
<i>Zerynthia polyxena</i> (Denis et Schiffermüller, 1775)	1	-	-
UKUPNO JEDINKI	194	200	222
UKUPNO VRSTA	19	29	28

Frekvencija pojavljivanja vrsta (C%)

Indeks frekventnosti pokazuje na koliko je lokaliteta zastupljena određena vrsta. Budući da su kao model odabrana samo tri lokaliteta za svaku vrstu moguće su samo tri vrijednosti indeksa koje su prikazane u tablici 3.

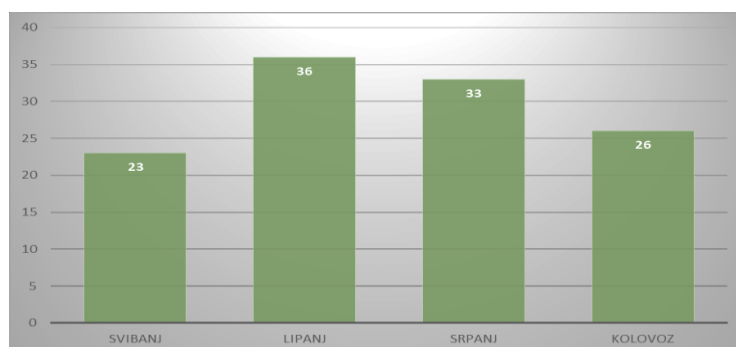
Tablica 3 Prikaz broja vrsta s određenim indeksom frekventivnosti

Indeks frekventivnosti	33,33%	66,67%	100%
Broj vrsta s tim indeksom	23	14	8

Prema vrijednosti indeksa frekventivnosti rijetke vrste u Turopolju su: *Aglais io*, *Argynnis adippe*, *Boloria pales*, *Cyaniris semiargus*, *Hamearis lucina*, *Iphiclides podalirius*, *Lasiommata megera*, *Limenitis camilla*, *Limenitis reducta*, *Lycaena dispar*, *Lycaena phlaeas*, *Melitaea phoebe*, *Minois dryas*, *Ochlodes venatus*, *Pieris brassicae*, *Polygonia c-album*, *Pyrgus malvae*, *Satyrus acaciae*, *Satyrus pruni*, *Thecla betulae*, *Thymelicus lineola*, *Zerynthia polyxena*. Česte vrste su: *Araschnia levana*, *Argynnis paphia*, *Boloria dia*, *Celastrina argiolus*, *Coenonympha pamphilus*, *Everes argiades*, *Gonepteryx rhamni*, *Leptidea sinapis*, *Maniola jurtina*, *Melanargia galathea*, *Melitaea phoebe*, *Melicta athalia*, *Melicta britomartis*, *Neptis sappho*, *Papilio machaon*, *Pararge aegeria*, *Pieris napi*, *Pieris rapae*, *Polyommatus icarus*, *Thymelicus sylvestris*, *Vanessa atalanta*.

Sezonska dinamika danjih leptira

Leptiri lete od ranog proljeća do kasne jeseni, a brojnost vrsta je u svakom mjesecu različita. Pojedine vrste tako lete tijekom cijele godine, a pojedine samo kroz par mjeseci. Sezonska dinamika vrsta na području Turopolja prikazana je grafični na slici 8.



Slika 8 Prikaz broja vrsta kroz mjesece

Zaštićene i gotovo ugrožene (NT) vrste

Tako su tijekom ovog istraživanja pronađene tri zaštićene vrste leptira: *Papilio machaon*, *Lycaena dispar* i *Zerynthia polyxena*. Ove vrste determinirane su na terenu i nakon determinacije su puštene. Vrste su zabilježene na fotografijama prikazanim na slici 9.

a) *Zerynthia polyxena*b) *Papilio machaon*c) *Lycaena dispar*

Slika 9 Ugrožene vrste danjih leptira na području Turopolja

Hi kvadrat (χ^2) test

Pomoću hi kvadrat testa provjerena je statistička značajnost rezultata. Na temelju istraživanja „Ekoloski i prostorni značaj Turopoljskog luga“ određujemo mogući broj vrsta na lokalitetu. Konačni broj vrsta dobiven je obradom rezultata ovog istraživanja. Ovi podaci prikazani su u tablici 4.

Tablica 4 Podaci o mogućem broju vrsta u odnosu na rezultate pomoću kojih se primjenjuje hi kvadrat test

	PEŠČENICA	TUROPOLJSKI LUG	PRKOVEC
MOGUĆI BROJ VRSTA	36	36	36
KONAČNI BROJ VRSTA	19	29	28

Ukupna vrijednost iznosi 184 a dobivena je tako da su zbrojene sve vrijednosti koje se nalaze u tablici. Pomoću tablice smo izračunali graničnu vrijednost koja iznosi 2,185 i stupanj slobode koji iznosi 2. Pomoću dobivenih vrijednosti smo iz tablice graničnih vrijednosti (nalazi se u prilogima) išitali nivo sigurnosti koji iznosi 90% i pokazuje da su rezultati statistički značajni.

RASPRAVA

Na području Hrvatske, fauna danjih leptira je dobro poznata i broji 195 vrsta (Šašić i Mihoci, 2011). Ovim faunističkim istraživanjem provedenim tijekom 2017. godine na tri lokaliteta u području Turopolja zabilježeno je 616 jedinki i utvrđeno 45 vrsta danjih leptira što predstavlja 23,07% faune



danjih leptira Hrvatske. Najzastupljenija porodica leptira u fauni Turopolja su šarenci (Nymphalidae) koji se spominju kao najzastupljeniji i u fauni leptira cijele Hrvatske.

Najveća pojavnost vrsta zabilježena je u lipnju, kada je primjećen i najveći broj biljaka hraniteljica u cvatu. Važne biljke hraniteljice velikom broju leptira koje su uočene na ovim lokalitetima su: kupina (*Rubus fruticosus*), divlja ruža (*Rosa camina*), žučica (*Cytisus procumbens*), kalina (*Ligustrum vulgare*), ivančica (*Leucanthemum vulgare*), abdovina (*Sambucus ebulus*) i livadna režuha (*Cardamine pratensis*).

Usporedi li se broj vrsta danjih leptira na području Turopolja s brojem vrsta u Spačvi (Ivanšćić, 2015), koja je po tipu vegetacije slična Turopolju, može se uočiti da je broj vrsta gotovo jednak (u Spačvi su utvrđene 42 vrste danjih leptira) no samo je 29 vrsta podudarno. Vrste koje su zabilježene na oba područja su: *Gonepteryx rhamni*, *Celastrina argiolus*, *Pieris napi*, *Pieris rapae*, *Leptidea sinapis*, *Ipchiclides podalirius*, *Maniola jurtina*, *Polygonia c-album*, *Vanessa atalanta*, *Aglais io*, *Polyommatus icarus*, *Boloria dia*, *Mellicta athalia*, *Papilio machaon*, *Pieris brassicae*, *Argynnis paphia*, *Lycaena dispar*, *Lycaena phlaeas*, *Everes argiades*, *Hamearis lucina*, *Neptis sappho*, *Ochlodes venatus*, *Lasiommata megera*, *Pararge aegeria*, *Araschnia levana*, *Coenonympha pamphilus*, *Pyrgus malvae*, *Melitaea phoebe*, *Argynnis adippe*. Pojavnost ovih vrsta na oba područja može se objasniti sličnošću istraživanih područja u klimatskim i vegetacijskim obilježjima. Moguće je da su na oba područja prisutne livade sa vegetacijom koja pogoduje navedenim vrstama, no zbog nedostatka odgovarajuće literature ne možemo to sa sigurnošću potvrditi.

Vrste: *Boloria pales*, *Coenonympha arcania*, *Coenonympha pamphilus*, *Cyaniris semiargus*, *Limenitis camilla*, *Limenitis reducta*, *Melanargia galathea*, *Mellicta britomartis*, *Minois dryas*, *Pyronia tithonus*, *Satyrus acaciae*, *Satyrus pruni*, *Thecla betulae*, *Thymelicus lineola*, *Thymelicus sylvestris* i *Zerynthia polyxena* prisutne na području Turopolja, a nisu zabilježene na području Spačve. Moguć razlog je mikroklima područja odnosno nepostojanje biljaka hraniteljica ovih vrsta u Spačvi, no kao što smo naveli nemamo dovoljno podataka da to sa sigurnošću utvrdimo.

Na području Spačve utvrđeno je 13 vrsta danjih leptira koje nisu zabilježene na području Turopolja, a to su: *Antiocharis cardamines* (Linnaeus 1758), *Artogeia manii* (Mayer 1851), *Clias crocea* (Geoffroy 1785), *Vanessa cardui* (Linnaeus 1758), *Apatura ilia* (Denis et Schiffermüller 1775), *Clossiana dia* (Linnaeus 1767), *Clossiana selene* (Denis et Schiffermüller 1775), *Issoria lathonia* (Denis i Schiffermüller 1775), *Nymphalis antiopa* (Linnaeus 1758), *Melitaea didyma* (Esper 1778), *Coenonympha glycerion* (Borkhausen 1788), *Carcharodus alceae* (Esper 1780) i *Lycaena tityrus* (Poda 1761). Mogući razlozi ovakve varijabilnosti su razlike u vegetacijskim obilježjima istraživanih područja ili nestanak navedenih vrsta na području Turopolja. Osim toga moguće je da su neke od navedenih vrsta prisutne na području Turopolja ali nisu zabilježene ovim istraživanjem.

U fauni Turopolja utvrđeno je istraživanjem „Ekološki prostorni značaj Turopoljskog luga“ 60 vrsta danjih leptira, što iznosi oko trećinu faune leptira utvrđene u Hrvatskoj (Drvodelić, 1999). Međutim moguće je da se u posljednjih 19 godina taj broj radi sukcesije livada i antropogenih utjecaja smanjio. Ovim istraživanjem u fauni Turopolja je određeno 45 vrsta što je za 25% vrsta manje od istraživanja koje je proveo Drvodelić (1999). Tako je prije 19 godina na jednom lokalitetu u Turopoljskom lugu navedenim istraživanjem utvrđeno 36 vrsta danjih leptira. Ovim je istraživanjem na drugom lokalitetu



u Turopoljskom lugu utvrđeno 28 vrsta što je za 22,23% manje nego prije 19 godina. Budući da Drvodelić (1999) ne navodi sve vrste ne možemo napraviti potpunu usporedbu te tako uvidjeti je li se sastav faune u zadnja dva desetljeća promijenio. Ipak možemo istaknuti dvije važne vrste, veliku modru preljevalicu (*Apatura iris*) i malu modru preljevalicu (*Apatura ilia*), koje u našem istraživanju nisu zabilježene, a Drvodelić (1999) ih navodi i definira kao ugrožene i zakonom zaštićene. Razlog tome mogao bi biti premalen broj izlazaka na teren u našem istraživanju ili nestanak tih dviju vrsta s tog lokaliteta u posljednjih 19 godina.

Zbog sukcesije livada i antropogenih utjecaja tijekom prošlih godina smanjio se broj pojedinih vrsta leptira koje su sada ugrožene i zaštićene (Šašić i sur. 2013.) Tako su tijekom ovog istraživanja zabilježene tri zaštićene i gotovo ugrožene (NT) vrste. To su *Lycaena dispar*, *Papilio machaon* i *Zerynthia polyxena*. U usporedbi s istraživanjem „Ekološki prostorni značaj Turopoljskog luga“ pronađene su dvije zajedničke vrste *Papilio machaon* i *Zerynthia polyxena*. Međutim *Lycaena dispar* je u usporedbi s istraživanjem koje je proveo Drvodelić (1999) nova zabilježena gotovo ugrožena (NT) vrsta, a nađena je na lokalitetu Peščenica koji se po tipu staništa razlikuje od Turopoljskog luga. U Peščenici je prisutno mnogo biljaka iz roda *Rumex* te bi to bio moguć razlog zašto ova vrsta nije zabilježena prije 19 godina.

Na lokalitetu „Peščenica“ utvrđeno je 10-ak vrsta manje nego na druga dva lokaliteta, a razlog je znatna razlika u tipu staništa „Peščenica“ u odnosu na lokalitete „Prkovec“ i „Turopoljski lug“. Naime, lokaliteti „Prkovec“ i „Turopoljski lug“ livade su uz šumu te tamo obitavaju i šumske vrste danjih leptira kao što su na primjer *Leptidea sinapis* i *Neptis sappho* (Kučinić i Plavac 2009), dok se na lokalitetu „Peščenica“ te vrste ne mogu naći.

Dvanaest vrsta je u ovom istraživanju zabilježeno na dva od ukupno tri lokaliteta. Od tih dvanaest vrsta sve se, osim *Iphiclides podalirius* i *Pyronia tithonus*, pojavljuju se na lokalitetima „Prkovec“ i „Turopoljski lug“ što znači da preferiraju tip staništa kao što su livade uz rubove šuma ili šumske livade. *Iphiclides podalirius* i *Pyronia tithonus* pojavljuju se na lokalitetima Prkovec i Peščenica, a zajedničke karakteristike tih dvaju staništa su karakteristične biljke poput trnine (*Prunus spinosa*) koje su važne biljke hraniteljice tim vrstama leptira (Kučinić i sur., 2014). Na sva tri lokaliteta pronađene su sljedeće vrste: *Coenonympha pamphilus*, *Maniola jurtina*, *Melanargia galathea*, *Mellicta britomartis*, *Pieris napi*, *Pieris rapae*, *Polyommatus icarus* i *Thymelicus sylvestris*. Te su vrste prilagođene na život na gotovo svim tipovima staništa i na njih ne utječu razlike u temperaturi ili nadmorskoj visini lokaliteta (Kučinić i sur., 2014). Vrste koje su osjetljive na razlike u temperaturi i nadmorskoj visini obično su i rijetke vrste, a u ovom istraživanju to su: *Aglais io*, *Argynnis adippe*, *Boloria pales*, *Cyaniris semiargus*, *Hamearis lucina*, *Iphiclides podalirius*, *Lasiommata megera*, *Limenitis camilla*, *Limenitis reducta*, *Lycaena dispar*, *Lycaena phlaeas*, *Melitaea phoebe*, *Minois dryas*, *Ochlodes venatus*, *Pieris brassicae*, *Polygonia c-album*, *Pyrgus malvae*, *Satyrium acaciae*, *Satyrium pruni*, *Thecla betulae*, *Thymelicus lineola*, *Zerynthia polyxena*. Moguće je da se pojedine vrste pojavljuju i na više lokaliteta, ali nisu uočene i zabilježene ovim istraživanjem.

S obzirom da je ovim istraživanjem određeno manje vrsta danjih leptira nego što ih je određeno prethodnim istraživanjem „Ekološki prostorni značaj Turopoljskog luga“ (Drvodelić, 1999) može se reći da hipoteza o smanjenju broja vrsta zbog antropogenih utjecaja i sukcesija livada na istraživanom



području nije opovrgnuta, ali pošto su u ovom istraživanju kao model uzeta samo tri lokaliteta hipotezu ne možemo sa sigurnošću potvrditi.

Pomoću hi kvadrata određena je statistička značajnost rezultata od 90% koja ukazuje na mogućnost da doista postoji razlika u broju vrsta u usporedbi s prethodnim istraživanjem. Radi boljeg uvida u ovaj problem potrebno je provesti istraživanje u duljem vremenskom razdoblju i na više lokaliteta.

ZAKLJUČCI

Provedenim istraživanjem doneseni su slijedeći zaključci:

- ✱ tijekom ovog istraživanja na području Turopolja utvrđeno je 45 vrsta danjih leptira koje su svrstane u šest porodica: Papilionidae, Pieridae, Lycaenidae, Hesperidae, Nymphalidae i Riodinidae
- ✱ veći broj vrsta nađen je na lokalitetima Prkovec (29) i Turopoljski lug (28), a manji broj na lokalitetu Peščenica (19)
- ✱ najčešće (najfrekventivnije) vrste na području Turopolja su: *Coenonympha pamphilus*, *Maniola jurtina*, *Melanargia galathea*, *Mellicta britomartis*, *Pieris napi*, *Pieris rapae*, *Polyommatus icarus* i *Thymelicus sylvestris*
- ✱ najveća pojavnost vrsta zabilježena je u lipnju kada ima najviše biljaka hraniteljica u cvatu
- ✱ Turopolje ima još starih zajednica koje su dom ugroženih vrsta danjih leptira: *Lycaena dispar*, *Papilio machaon* i *Zerynthia polyxena*
- ✱ Ovim istraživanjem zabilježeno je 45 vrsta danjih leptira što je za 25% manje nego u prethodnom istraživanju koje je proveo Drvodelić (1999)

ZAHVALA

Uz posebnu zahvalnost mentorici Romani Halapir Franković, veliku zahvalnost iskazujem prof. Josipu Novaku i prof. Zrinki Pongrac-Štimac što su mi pomogli svojim savjetima pri izradi ovog istraživačkog rada i što su imali strpljenja i vremena za moje upite. Također, zahvaljujem dr. sc. Martini Šašić na Hrvatskom prirodoslovnom muzeju oko pomoći pri provjeri rezultata.

LITERATURA

- Drvodelić D. 1999. Ekološki i prostorni značaj Turopoljskog luga, diplomski rad na Šumarskog odsjeka Šumarskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb
- Web Fauna Europaea, <https://fauna-eu.org/index.php>, pristupljeno 24.9.2017.
- Grubišić A. 2004. Hi-kvadrat test i njegove primjene, seminarski rad, Split
- Ivanšić I. 2016. Fauna danjih leptira (Lepidoptera: Rhopalocera) sjeverozapadnog dijela Spačve, diplomski rad na Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek
- Kučinić M. i Plavac I. 2009. „Priručnik za inventarizaciju i praćenje stanja“, Katušić L., STEGA TISAK d.o.o., Zagreb
- Kučinić M., Mihoci I., Delić A. 2014. „Leptiri oko nas“, Matekalo Draganović J., školska knjiga, Zagreb
- Šašić M. i Mihoci I., 2011. Popis vrsta danjih leptira Hrvatske s hrvatskim imenima i napomenama, Nat. Croat., Vol. 20, No. 2., 425–436, Zagreb
- Šašić M., Mihoci I. i Kućinić M. 2013. Crvena knjiga danjih leptira hrvatske, Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, Državni zavod za zaštitu prirode, Hrvatski prirodoslovni muzej, Zagreb
- Tolman T. i Lewington R. 2008. Butterflies of Britain & Europe. Harper Collins Publishers, London