



Hrvatsko biološko društvo
Societas biologorum croatica

Biozhalac

časopis učeničkih istraživanja iz biologije



2019.



Pokrovitelj:



ISSN 1849-837X

BIOZNALAC



časopis učeničkih istraživanja iz biologije

18. 6. 2019.

Izdavač

Hrvatsko biološko društvo

Rooseveltov 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

Žaklin Lukša, zaklinluksa@gmail.com

Recenzenti

Maja Antunović, Doroteja Domjanović Horvat, Sanja Fabac, Irena Labak, Andreja Lucić, Marina Ništ, Miroslav Samardžić, Mirela Sertić Perić, Josip Skejo, Filip Stević

Web urednik

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

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

SADRŽAJ

Bioznačac 2019.

Članak	Autori	Naslov rada	Razred	Mentor	Naziv škole	Stranice
1	<i>Blaž Lukša</i>	PRAĆENJE PONAŠANJA I NAVIKA ZIMSKOG HRANJENJA RAZLIČITIH VRSTA PTICA	7.	<i>Sanja Janušić</i>	III. OŠ Čakovec Čakovec	1-10
2	<i>Antonija Perin Lana Grbin</i>	UTJECAJ DEZODORANSA NA RAZVOJ SUNOKRETA, BLITVE I SALATE	7.	<i>Mirica Brekalo</i>	Osnovna škola Petra Preradovića Zadar	11-20
3	<i>Katarina Vilić Vita Šeremet</i>	UČINAK NEIONIZIRAJUĆEG ELEKTROMAGNETSKOG ZRAČENJA Wi-Fi UREĐAJA NA PAPUČICU (Paramecium caudatum Ehrenberg, 1833.)	7.	<i>Đurđica Patafta</i>	OŠ Ljudevita Gaja Zaprešić	21-28
4	<i>Nicol Eršeg Ines Sataić</i>	NASLJEĐUJEMO LI OTISKE PRSTIJU?	8. 7.	<i>Dunja Valenčak</i>	Osnovna škola Fran Koncelak Drnje Drnje	29-36
5	<i>Karlo Bertetić Ivor Vretenar</i>	OD JAJA DO KOKOŠI	8.	<i>Maja Curić</i>	OŠ Vladimira Nazora Pazin Pazin	37-47
6	<i>Karla Jug Matea Rakić</i>	VOLITE LI GREJP?	8.	<i>Kristina Gajski</i>	OŠ Gračani, Zagreb	48-56
7	<i>Magdalena Klarić</i>	UVJETOVANO UČENJE I INSTINKTIVNO PONAŠANJE ZAMORČIĆA	1.	<i>Katarina Medić</i>	II. gimnazija Zagreb	57-69
8	<i>Filip Bijelić</i>	UTJECAJ RAZLIČITIH GNOJIVA NA KLIJANJE I RAST <i>Phaseolus vulgaris</i> L., <i>Pisum sativum</i> L. i <i>Allium cepa</i> L.	1.	<i>Dorotea Vrbanović</i>	V. gimnazija Zagreb	70-78
9	<i>Tea Konosić Marin Rimac</i>	BRZINA RAZGRADNJE SVLAKA VRSTA <i>Bitis arietans</i> i <i>Boiga dendrophila</i> U NEUTRALNOJ I BLAGO KISELOJ ZEMLJI	2. 3.	<i>Dorotea Vrbanović</i>	V. gimnazija Zagreb	79-88
10	<i>Sara Cesar Mirta Sedlar</i>	PRETILOST – MOŽEMO LI OKRIVITI JEZIČNE PAPILE?	3.	<i>Lovorka Kučak</i>	Prva gimnazija Varaždin, Varaždin	89-100
11	<i>Ana Randić Nina Randić</i>	PROGRAMSKI ALAT ZA AUTOMATIZIRANO PREPOZNAVANJE AMBROZIJE NA FOTOGRAFIJAMA SNIMLJENIM U PRIRODNOM OKRUŽENJU	3.	<i>Romana Halapir Franković</i>	V. gimnazija Zagreb	101-113
12	<i>Ivor Babić Magdalena Lacić</i>	PRISUTNOST FEKALNOG ONEČIŠĆENJA U VODAMA TUROPOLJA	4.	<i>Đurđica Maskalan</i>	Gimnazija Velika Gorica, Velika Gorica	114-



PRAĆENJE PONAŠANJA I NAVIKA ZIMSKOG HRANJENJA RAZLIČITIH VRSTA PTICA

Blaž Lukša, 7. razred

III. OŠ Čakovec, Čakovec
Mentor: Sanja Janušić

SAŽETAK

Uspješno preživljavanje ptica stanačica tijekom zime od velike je važnosti za očuvanje biološke ravnoteže. Često se hrane štetnim kukcima te tako na prirođan način pridonose zaštiti biljnih kultura. Vrste ptica prisutne u okolišu za vrijeme hladnih zima i dugotrajnog snježnog pokrivača trebaju dodatne izvore hrane jer su se prirodni izvori znatno prorijedili. Kad ptice ne pronalaze dovoljno hrane, nemaju dovoljno energije pa uginu od hladnoće ili postanu plijen drugih životinja. Kod zimskog hranjenja ptica važno je da se jednom započeto hranjenje obavlja redovito, do porasta temperature zraka ili otapanja snijega. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi postoje li razlike u vrstama i brojnosti ptica koje se pojavljuju na zimskim hranilištima, koju vrstu hrane preferiraju, kako dolaze te kako se ponašaju na hranilicama. Također se željelo utvrditi utječu li temperatura zraka i snježni pokrivač na količinu pojedene hrane. Istraživanje je provedeno na dva lokaliteta (grad i selo) tijekom siječnja i veljače 2019. Za prehranu ptica korištene su sjemenke suncokreta i mješavine različitih sjemenki ponuđene u dva tipa hranilica (posuda ili visilica) te lojne kugle. Svakodnevno su mjerene potrošnja hrane te dnevne temperature zraka. Prisutne vrste ptica na hranilicama su fotografirane. Utvrđena je veća zastupljenost i brojnost vrsta ptica na lokalitetu u gradu. Uočeno je da su sve zabilježene vrste radije jele sjemenke suncokreta, neke su jele i loj, dok niti jedna vrsta nije jela mješavinu sjemenki. U danima s nižom temperaturom zraka te kad je tlo prekriveno snijegom potrošnja hrane bila je povećana. Da li će ptice na hranilice dolaziti pojedinačno ili u skupinama, kako će se hraniti i ponašati na hranilicama ovisilo je o vrsti.

Ključne riječi: stanačice; zimsko hranjenje; snijeg; temperatura zraka; ponašanje

UVOD

Ptice su stanovnici čitavog svijeta, ima ih na tlu, uz kopnene vode i more, u toplim i hladnim krajevima. Jedna su od skupina životinja koje su uspjeli osvojiti zračni prostor što im je donijelo niz prednosti. Rasprostranjene su od sjeverne do južne polutke, mogu spretno pobjeći predatoru vezanom za tlo, tražiti hrani na većim udaljenostima.

Danas je u svijetu poznato oko 9 800 vrsta ptica. Hrvatska pripada evropskim zemljama s velikim brojem ptičjih vrsta pa je tako u nas zabilježeno ukupno 379 vrsta ptica. Ptice razlikujemo i prema selidbenim navikama. Tako u Hrvatskoj pticama gnjezdarcama pripadaju 244 vrste. Ostale ptičje vrste zabilježene su na zimovanju, preletu ili tijekom skitnje (Dolenec, 2012). Danas su mnoge vrste ptica zbog sve većeg uništavanja prirodnog prostora ugrožene, a neke su izumrle. Upoznavanje i praćenje ptica važno je zbog njihove zaštite jer je brojnost mnogih vrsta u opadanju (Dolenec, 2012).

Preživljavanje ptica u prirodi ovisi o količini hrane. Brojne ptice selice migriraju u toplije krajeve u kojima pronalaze dovoljno hrane tijekom zime. Ipak u našim krajevima ostaju mnoge vrste koje su prilagođene pa čitavu godinu borave u istom kraju. Ptice stanačice uspješno preživljavaju zime bez ljudske pomoći već milijunima godina i u prirodi samostalno pronalaze dovoljne količine hrane. Ipak, posljednjih desetljeća ljudi su promijenili ili uništili mnoga staništa pa su se prirodni izvori hrane znatno prorijedili. I zime s vrlo niskim temperaturama te dugotrajnim snježnim pokrivačem uzrokuju nedostatak hrane pa ptice gladuju. Zbog hladnoće i manjka hrane ptice oslabi, uginu ili postanu plijen drugih životinja. Stoga, dodatno hranjenje omogućuje preživljavanje ptica tijekom zima. Kod zimskog hranjenja ptica važno je da se jednom započeto hranjenje obavlja redovito, do kraja snijega ili vrlo



niskih temperatura. Naviknute na siguran izvor hrane, ptice se svakodnevno vraćaju na istu hranilicu pa u slučaju nestanka hrane mnoge neće preživjeti. Hranilice je najbolje napuniti navečer jer se ptice hrane već od zore (Krnjeta, 2008). Ptice stanaice naših krajeva se tijekom zime najčešće hrane zaostalim sjemenkama, bobicama, cvjetovima i voćem koje nije otpalo s drveća pa im stoga treba osigurati hranilišta sa sjemenkama, svježim ili sušenim voćem. I goveđi loj je dobar kako bi preživjele razdoblje oskudice (Krnjeta, 2008).

Ptice iz različitih porodica najčešće se hrane različitim hranom. Vrste divljih ptica pjevica koje najčešće dolaze na hranilice su velika sjenica (*Parus major*), plavetna sjenica (*Parus caeruleus*), crnoglava sjenica (*Poecile palustris*), brgljez (*Sitta europaea*), zeba (*Fringilla coelebs*) i zelendur (*Carduelis chloris*) (Ornitologija.hr, 2019). Mnoge vrste vole goveđi loj ili mješavinu pšenice, prosa, zobi, suncokreta i mljevenog kukuruza. No, ipak su sjemenke suncokreta (neljuštene i nesoljene) u našim uvjetima univerzalna hrana za većinu vrsta ptica koje posjećuju hranilice. Crni suncokret sadrži veći udio masti i bjelančevina pa je bolji izvor energije od šarenog (Ornitologija.hr, 2019).

U mnogim je krajevima Hrvatske zimsko hranjenje ptica potrebno provoditi od prosinca do veljače. No, to uvelike ovisi o vremenskim uvjetima tijekom pojedine godine. Za vrijeme jakih zima, kada su dugotrajne niske temperature zraka ili je tlo prekriveno snijegom, to može biti i nešto duže, između studenoga i ožujka. Za vrijeme blagih zima mnoge vrste ptica rijetko ili uopće ne posjećuju hranilice jer relativno lako pronalaze dovoljno prirodne hrane (Tomik i Podravec, 2010).

Brojne su se vrste ptica u potrazi za hranom vezale uz naselja te tijekom godina promijenile svoje ponašanje. Stekle su naviku približavanja čovjeku pa ih često možemo vidjeti kako u našoj blizini traže hrani. Osim toga većina ptica koje žive u našim krajevima korisno je u poljoprivredi i šumarstvu jer se hrane kukcima te tako održavaju njihovu brojnost. Dio tih kukaca mogu biti i štetnici u poljoprivredi ako se njihov broj previše poveća jer nema ptica koje se njima hrane. Zbog toga je poželjno pticama stvoriti povoljne uvjete za preživljavanje zime, kako bi se u proljeće mogle razmnožavati i stvoriti potomstvo (Oštrkapa Međurečan, 2014).

Promatranje različitih vrsta ptica i njihovog ponašanja iz neposredne blizine moguće je za zimskog hranjenja. Ono pruža odličnu priliku jer ptice na hranilici nisu previše plahe. Lako ih je promatrati s nekoliko metara udaljenosti pa i kroz prozor sobe. U dvorištu mog djeda koji živi na selu proteklih sam godina uočio razne vrsta ptica. Pomažući djedu koji svake zime vodi brigu o njima i hrani ih, a u druga godišnja doba ptice mu pjevaju i hrane se kukcima u njegovom vrtu i voćnjaku, primijetio sam da se ptice na hranilištu vrlo različito ponašaju. Kako moja obitelj živi u gradu, želio sam istražiti koje su razlike između ptica u selu i ptica u gradu.

Ovim istraživanjem utvrdit će se postoje li razlike u vrstama i brojnosti ptica koje se pojavljuju na zimskom hranilištu u gradu (lokalitet I) i u selu (lokalitet II), koju vrstu hrane ptice preferiraju, kako količina pojedene hrane ovisi o temperaturi zraka i snježnom pokrivaču te kako se različite vrste ponašaju za vrijeme zimskog hranjenja. U skladu s tim treba utvrditi točnost sljedećih prepostavki:

- ➊ Očekuje se veća brojnost i zastupljenost vrsta ptica na lokalitetu u seoskoj sredini.
- ➋ Manje će se pojesti miješane hrane sjemenki pšenice, prosa, zobi i suncokreta u odnosu na sjemenke suncokreta i loj.
- ➌ Postoji jasna povezanost utjecaja temperature zraka i pokrivenosti tla snijegom na potrošnju hrane u hranilicama na oba promatrana lokaliteta.



Postoje razlike u ponašanju različitih vrsta ptica za vrijeme zimskog hranjenja na hranilicama.

METODE RADA

Plan istraživanja uključivao je :

Teorijski dio istraživanja (od listopada do prosinca 2018.):

- izbor problema i proučavanja literature,
- definiranje cilja i pretpostavki,
- odabir primjerenih metoda istraživanja,
- izrada i priprema hranilica,
- priprema tablica za opažanje.

Praktični dio istraživanja (od siječnja 2019. do kraja veljače 2019.):

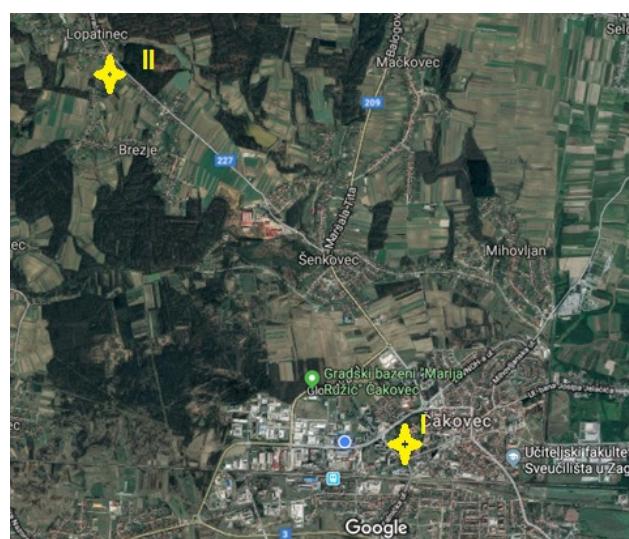
- postavljanje hranilica na oba lokaliteta,
- provodenje opažanja ptica,
- vođenje dnevnika opažanja,
- svakodnevno vaganje utrošene hrane,
- svakodnevno mjerjenje temperature zraka.

Obrada dobivenih podataka (**ožujak 2019.**):

- obrada i uspoređivanje dobivenih podataka (*Excel*),
- usporedba dobivenih podataka s podatcima iz literature,
- analiza mogućih pogrešaka i prijedlozi poboljšanja istraživanja,
- priprema rasprave i pisanje završnog izvješća.

Opis lokacija istraživanja

Istraživanjem je praćena učestalost pojedinih vrsta ptica na hranilištu te njihovo ponašanje za vrijeme zimskog hranjenja. Ptice su promatrane u dvorištima obiteljskih kuća na dva lokaliteta (slika 1).



Slika 1. Karta s označenim lokalitetima odabranim za istraživanje (I – grad, II – selo)

Predviđeno je promatranje ptica iz neposredne blizine, s nekoliko metara udaljenosti (oko 4 metra na oba lokaliteta). Jedan se lokalitet nalazi u gradu Čakovcu (I), a drugi u selu Lopatinec (II). Lokalitet I je u centru grada, u dvorištu obiteljske kuće, u blizini gradskog parka. Na tom su lokalitetu (I) hranilice postavljene u dvorištu s voćkama koje je s jedne strane omeđeno listopadnim grmljem forzicije, jorgovana i bazge. Na drugom lokalitetu (II), u seoskom dvorištu koje je omeđeno listopadnom šumom,

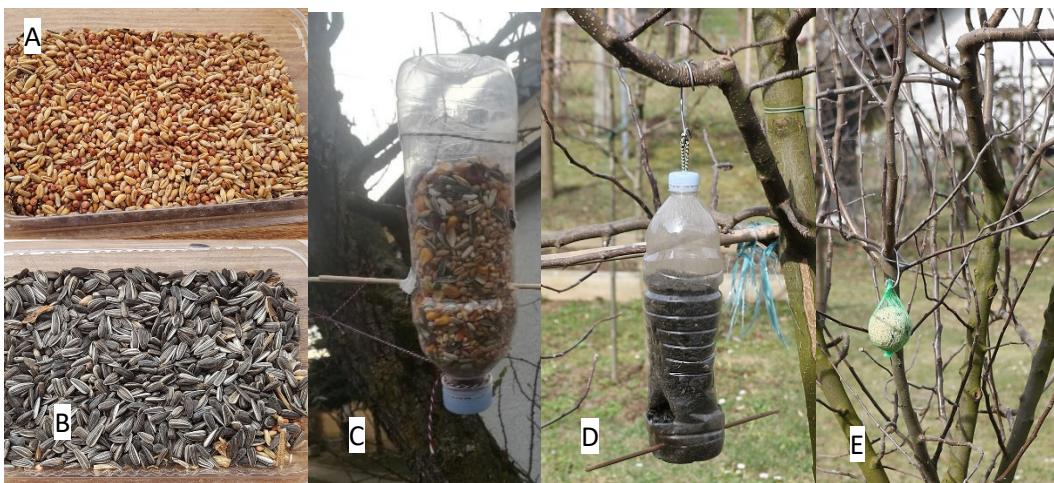


hranilice su postavljene na voćkama u dvorištu i ogradi terase na koju se ne izlazi. Položaj hraništa na lokalitetu II izabran je zbog višegodišnjeg postavljanja hraničica na istom mjestu. Hranilice su na oba lokaliteta postavljene na takvu udaljenost da se ptice ne uzinemiruju, a da je moguće promatranje kroz prozor. Da bi se istražile preferencije hrane različitih vrsta ptica korišteno je nekoliko različitih vrsta hrane, a to su sjemenke suncokreta, mješavina sjemenki (30% pšenice, 30% zobi, 20% suncokreta i 20% prosa) te lojne kugle sa sjemenjem (Autohtone ptice Hrvatske, 2014).

Za potrebe istraživanja pripremljeno je pet vrsta hraničica (slika 2):

1. rasuto sjemenje u plitkoj posudi (A/mješavina sjemenki, B/sjemenke suncokreta)
2. samostalno izrađena visilica - plastična boca od 1,5 l (C/mješavina sjemenki, D/sjemenke suncokreta)
3. E/ lojna kugla sa sjemenkama za vanjske ptice u mrežici 90 g (VERSELE LAGA, zemlja podrijetla Mađarska)

Po jedna od svake vrste hraničica postavljena je na svakom od dva promatrana lokaliteta. Viseće hraničice i lojne kugle postavljene su u dvorištima na stabla voćaka, a plitke posude s rasutim sjemenjem na ogradi terase.



Slika 2. Hranilice korištene u istraživanju: A - rasuta mješavina sjemenki u plitkoj posudi; B - rasute sjemenke suncokreta u plitkoj posudi; C - mješavina sjemenki u samostalno izrađenoj visilici od plastične boce (1,5 l); D - sjemenke suncokreta u samostalno izrađenoj visilici od plastične boce (1,5 l); E - lojna kugla sa sjemenkama za vanjske ptice u mrežici 90 g (VERSELE LAGA, zemlja podrijetla Mađarska) (izvor: Lukša, 2019)

U pojedine se pripremljene hraničice stavlja jednaku količinu sjemenki suncokreta ili mješavine sjemenki (po 100 g u plitke posude te po 400 g u visilice). Svake se večeri izvaze sve hraničice na pojedinom lokalitetu kako bi se utvrdila ukupna potrošnja hrane tijekom dana. Hranilice se nadopunjavaju do početne mase. Nadopunjaju se u večernjim satima kako se za vrijeme dana ne bi uzinemiravalo ptice. Pribor potreban za istraživanje naveden je u tablici 1.

Tablica 1. Pribor za izradu i punjenje hraničica te bilježenje podataka

PRIBOR	KOLIČINA
Hranilice: 2 plitke posude za hrano, 2 plastične boce, 1 lojna kugla	5 x 2
Lijevak, štapić i posuda za punjenje visilica	2
Digitalna vaga (OHAUS Scout Pro SPU2001, max 2000 grama, d=0,1 g)	2
Termometar (digitalni)	2
Fotoaparati (Sony DSC-HX1 i Canon EOS 7DMark2)	2
Heinzel i sur., 1999. Ptice Hrvatske i Europe sa Sjevernom Afrikom i Srednjim istokom Nicolai, 1990. Ptice pjevice	2+2



Opažanje i bilježenje opažanja

Tijekom prosinca 2018. postavljene su hranilice na oba lokaliteta no kako je samo povremeno primijećena prisutnost ptica, bilježenje podataka započeto je tek početkom siječnja kad su se ptice na hranilicama pojavljivale svakodnevno. Do kraja veljače 2019., dnevno se promatraju hranilišta na oba lokaliteta po 3 sata, u razdoblju od 9:00 do 15:00 sati. Ovaj je termin odabran zbog navika hranjenja ptica te kraćih dana tijekom zime. Promatranje je usklađeno na oba lokaliteta, ovisno o školskim obvezama i rasporedu sati (izmjena jutarnje i popodnevne smjene). U promatranju i bilježenju podataka na lokalitetu u gradskom dvorištu (I) pomažu roditelji, a u seoskom dvorištu (II) djed.

U dnevniku opažanja vode se bilješke o vrstama ptica na hranilištu koje su određivane uz pomoć slikovnih priručnika (Nicolai, 1990; Heinzel i sur., 1999). U pripremljene se tablice (tablica 2) upisuje broj jedinki pojedine vrste ptica, izbor hrane i hranilice te način ponašanja pri hranjenju (dolazak na hranilište pojedinačno ili u skupini, zadržava li se na hranilici ili odnosi hranu, međusobni odnos ptica tijekom hranjenja i dr. osobitosti koje se mogu zamijetiti tijekom hranjenja). Ptice su fotografirane. Također je mjerena temperatura zraka i to svaki dan u 9 sati ujutro. Prate se i mjere i dnevne promjene temperature te oborine (snijeg, kiša) kako bi se utvrdilo postoji li povezanost između temperature, pokrivenosti tla snijegom i potrošnje hrane u hranilicama.

Tablica 2. Primjer tablice za bilješke o promatranju ptica

Lokalitet I (grad)/ Lokalitet II (selo)			
Datum		Temperatura zraka	
Vrijeme promatranja		Oborine	
Vrsta ptice	Broj zabilježenih jedinki na hranilištu	Dolazak na hranilište pojedinačno ili u skupini	Preferirana vrsta hrane
	Preferirana vrsta hranilice	Način uzimanja hrane	Ponašanje pri hranjenju

Obrada dobivenih podataka

Nakon završetka promatranja, dobiveni se podaci svakog lokaliteta obrađuju, međusobno uspoređuju te prikazuju tablično ili grafički radi bolje preglednosti.

Za svaku se vrstu izračunava postotni udio posjećenosti na pojedinim vrstama hranilica:

$$\% \text{ udio pojedine vrste na hranilici} = \frac{\text{broj jedinki pojedine vrste na promatranoj hranilici} \times 100}{\text{ukupan broj jedinki na promatranoj hranilici}}$$

ili kod vrsta zastupljenih samo s dvije jedinke uspoređuje se broj dolazaka jedinki na pojedinu hranilicu pa se izračunava postotni udio:

$$\% \text{ udio pojedine vrste na hranilici} = \frac{\text{broj dolazaka pojedine vrste na promatranu hranilicu} \times 100}{\text{ukupan broj dolazaka na sve hranilice}}$$

Također se uspoređuju prikupljeni podaci o načinu dolaska pojedine vrste na hranilicu, o načinu uzimanja hrane te ponašanju pri hranjenju. Ovi se podaci prikazuju tablično. Grafički će se prikazati i preferirana vrsta hrane, potrošnje hrane u odnosu na temperaturu zraka te potrošnja hrane u odnosu na pokrivenost tla snijegom. Rezultati se prikazuju grafički pomoću računalnog programa Microsoft Office Excel 2010.



REZULTATI

U razdoblju od 4. siječnja do 28. veljače je na lokalitetima u gradu (I) i selu (II) na različitim hranilicama zabilježeno ukupno 7 vrsta ptica: velika sjenica (*P. major*), plavetna sjenica (*P. caeruleus*), crnoglava sjenica (*Poecile palustris*), češljugar (*Carduelis carduelis*), zelendor (*C. chloris*), poljski vrabac (*Passer montanus*), sjeverna zeba (*Fringilla montifringilla*) (slike 3 - 8).



Slika 3. Velika sjenica (izvor: Lukša, 2019)



Slika 4. Plavetna sjenica (izvor: Lukša, 2019)



Slika 5. Crnoglava sjenica (izvor: Lukša, 2019)



Slika 6. Zelendor (izvor: Lukša, 2019)



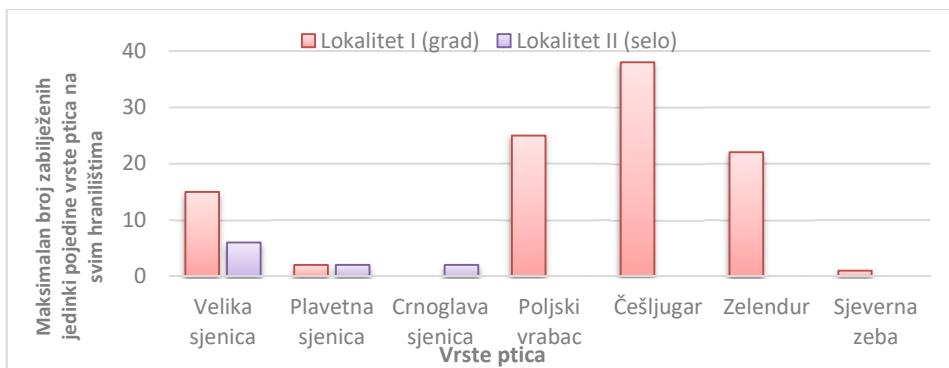
Slika 7. Češljugar i poljski vrapac (izvor: Lukša, 2019)



Slika 8. Sjeverna zeba (izvor: Lukša, 2019)

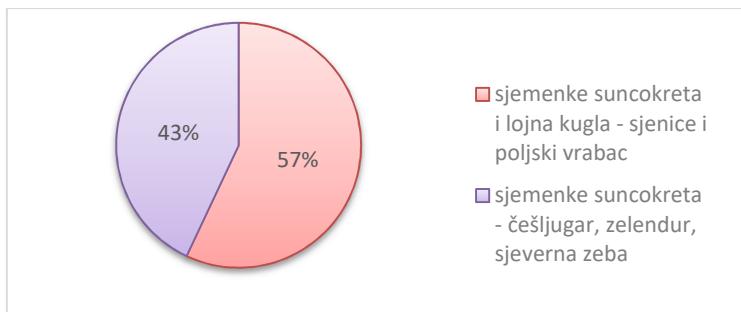
U gradskom su dvorištu na hranilicama bili najbrojniji češljugari (37%), zelenduri (21%), poljski vrapci (24%) i velike sjenice (15%), dok su se u manjem broju pojavljivale plavetna sjenica (2%) i sjeverna zeba (1%). Crnoglava sjenica nije zabilježena na ovom lokalitetu. U seoskom su dvorištu na hranilicama bile najbrojnije jedinke velike sjenice (60%), dok su u manjem broju bile zastupljene plavetna sjenica (20%) i crnoglava sjenica (20%). Na tom su se lokalitetu pojavljivale i jedinke poljskog vrapca, sjeverne zebe te kosa (*Turdus merula*), ali se nisu hraniće. Češljugari i zelendori nisu primjećeni na seoskom lokalitetu (slika 9).

Na lokalitetu u gradu u nekoliko su navrata zamjećene su i svraka (*Pica pica*), čavka (*Corvus monedula*) te gačac (*Corvus frugilegus*).



Slika 9. Zastupljenost vrsta koje posjećuju hranilice na pojedinom lokalitetu

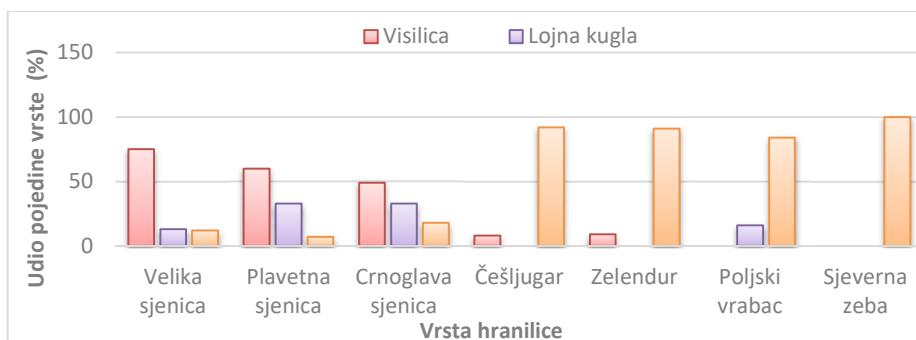
Promatranjem ptica na oba lokaliteta utvrđeno je da pri hranjenju niti jedna vrsta ptica uz ponuđeni suncokret ne odabire mješavinu sjemenki (pšenica, zob, suncokret i proso) niti iz plitke posude kao ni iz visilice. Sve vrste sjenica – velika, plavetna i crnoglava te poljski vrabac najčešće odabiru sjemenke suncokreta, ali jedu i loj iz lojne kugle. Zelendor, češljugar i sjeverna zeba hrane se samo sjemenkama suncokreta (slika 10).



Slika 10. Preferirana vrsta hrane za pojedine vrste ptica

Na promatranim je lokalitetima (I – grad, II – selo) postavljeno pet vrsta hranilica: lojna kugla sa sjemenkama, visilica s mješavinom sjemenki, visilica sa sjemenkama suncokreta, plitka posuda s mješavinom sjemenki i plitka posuda sa sjemenkama suncokreta.

Na oba su lokaliteta sve zabilježene vrste sjenica uzimale sjemenke s pripremljenih visilica ili posude s rasutim sjemenjem, a hranile su se i lojem iz lojne kugle. Češljugar, zelendor, poljski vrabac i sjeverna zeba hranili su se sjemenjem iz plitke posude ili s tla kad su se ispod visilice nakupile sjemenke koje su ispale. Poljski vrabac je jeo i loj s lojne kugle, dok su zelendor i češljugar povremeno jeli i sjemenke s visilice (slika 11).



Slika 11. Preferirana vrsta hranilice za pojedine vrste ptica

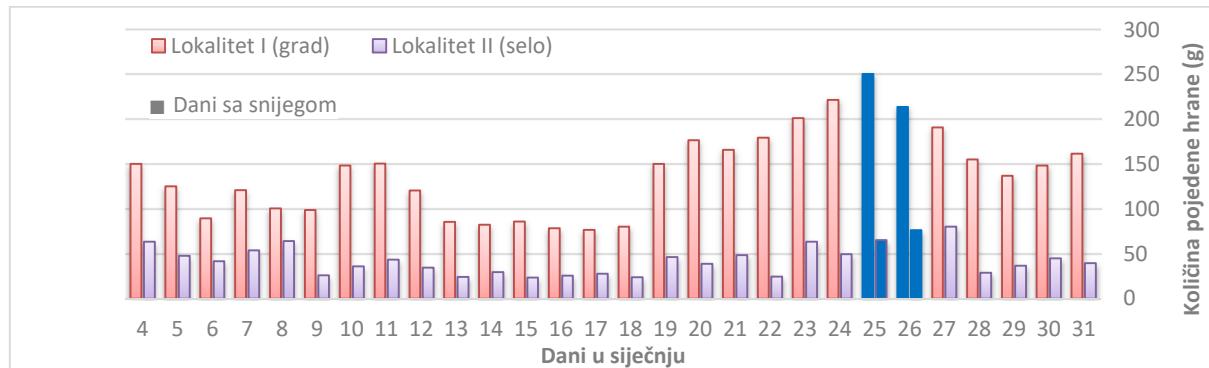


Istraživanjem je utvrđeno kako se ponašaju određene vrste ptica pri hranjenju, dolaze li na hranilište pojedinačno ili u skupinama, kako uzimaju hrani, kako se odnose prema drugim pticama, kako se ponašaju pri hranjenju (tablica 3).

Tablica 3. Način dolaska na hranilište, uzimanja hrane te ponašanje pojedine vrste ptica pri hranjenju

Vrsta ptice	Dolazak na hranilište (iz okolnog grmlja)	Način uzimanja hrane	Ponašanje pri hranjenju
Velika sjenica	pojedinačno	<ul style="list-style-type: none"> - stoji na prečki visilice ili rubu plitke posude - visi na mrežici lojne pogače - uzima sjemenku te je odnosi u obližnji grm gdje se hrani 	<ul style="list-style-type: none"> - čeka iznad visilice na grani da se oslobodi prečka - ne usudi se na visilicu ako je prisutan češljugar - odleti u obližnji grm na najmanje uzinemiravanje
Plavetna sjenica	pojedinačno, ali se pojavljuje samo uz veliku sjenicu	<ul style="list-style-type: none"> - stoji na prečki visilice ili rubu plitke posude - visi na mrežici lojne pogače - uzima sjemenku te je odnosi u obližnji grm gdje se hrani 	<ul style="list-style-type: none"> - čeka iznad visilice na grani da se oslobodi prečka, - ne usudi se na visilicu ako je prisutan češljugar, - odleti u obližnji grm na najmanje uzinemiravanje
Crnoglava sjenica	pojedinačno	<ul style="list-style-type: none"> - stoji na prečki visilice ili rubu plitke posude - visi na mrežici lojne pogače 	<ul style="list-style-type: none"> - uzima sjemenku te je odnosi u obližnji grm gdje se hrani - odleti u obližnji grm na najmanje uzinemiravanje
Češljugar	u skupini	<ul style="list-style-type: none"> - stoji na rubu plitke posude ili na tlu te uzima sjemenke koje otvara na mjestu - hrani se uzimajući sjemenke iz visilice stojeći na prečki dok se ne najede 	<ul style="list-style-type: none"> - tjera sjenice s prečke i druge vrste s hranilica podizanjem glave, mašući krilima, otvaranjem kljuna, glasnim pjevom
Zelendor	u skupini	<ul style="list-style-type: none"> - stoji na rubu plitke posude ili na tlu te uzima sjemenke koje otvara na mjestu - hrani se uzimajući sjemenke iz visilice stojeći na prečki dok se ne najede 	<ul style="list-style-type: none"> - ne obazire se na druge vrste - brani se kad ga napada češljugar mahanjem krila
Poljski vrabac	u skupini	<ul style="list-style-type: none"> - stoji na rubu plitke posude ili na tlu te uzima sjemenke koje otvara na mjestu - visi na mrežici lojne pogače 	<ul style="list-style-type: none"> - ne obazire se na druge vrste - ne napada druge vrste - brani se kad ga napada češljugar mahanjem krila
Sjeverna zeba	Pojedinačno	<ul style="list-style-type: none"> - stoji na rubu plitke posude ili na tlu te uzima sjemenke koje otvara na mjestu 	<ul style="list-style-type: none"> - ne obazire se na druge vrste - ne napada druge vrste

Promatrana je i ukupna potrošnja hrane u svim hranilicama u odnosu na vrstu oborine i pokrivenost tla snijegom. Tijekom siječnja bilo je malo oborina, uglavnom kiše i tek dva dana sa snijegom koji se kratko zadržao na tlu. Ptice su pojele više hrane u siječnju kad je pao snijeg (slika 13). Tijekom veljače bilo je vrlo malo kratkotrajne kiše pa podaci nisu uspoređivani.



Slika 13. Potrošnja hrane u ovisnosti o oborinama u siječnju



RASPRAVA

Prema rezultatima provedenog istraživanja utvrđeno je da postoji razlika u zastupljenosti vrsta i njihovoj brojnosti na lokalitetima u gradu (I) i u selu (II). Suprotno očekivanjima temeljenim na višegodišnjem promatranju ptica, na lokalitetu u selu (II) je zabilježena manja brojnost jedinki i manji je broj uočenih vrsta ptica. Mnoge vrste (zebe, češljugari, zelenduri) koje su uočene proteklih godina nisu tijekom ovog istraživanja zabilježene na tom lokalitetu. Mogući razlog ovakvog odstupanja od pretpostavke je taj što je tijekom ljeta 2018. došlo do promjene u okolišu na lokalitetu u selu. Naime, zbog postavljanja kanalizacije u naselju posjećeno je okolno grmlje pa je teren u blizini lokaliteta značajno ogoljen. Razlog što se neke vrste ptica nisu hranile, iako su se pojavljivale na hranilištima u selu, vjerojatno je taj da su pronašle dovoljno hrane na nekom drugom obližnjem lokalitetu. U gradskoj sredini ptice vjerojatno nemaju dovoljno dostupne prirodne hrane pa je njihova posjećenost hranilicama veća.

Tijekom istraživanja primjećeno je da ptice uopće nisu jele mješavinu sjemenki čime je potvrđeno da će ptice manje jesti mješavine sjemenki (pšenica, zob, suncokret i proso) od sjemenki suncokreta ili sjemenki pomješanih s lojem. Dobiveni je rezultat u skladu s rezultatima drugih promatranja koja spominju sjemenke suncokreta kao univerzalnu hranu za većinu ptica u našim krajevima (Ornitologija.hr, 2019).

Analizirajući ponašanje ptica pri hranjenju potvrđena je pretpostavka da će se različite vrste ponašati različito. Primijećeno je da će sve prisutne vrste sjenica uzimati hranu s povisene hranilice, dok se češljugari, zelenduri, poljski vrapci i sjeverne zebe najčešće hrane šećući se po tlu što je u skladu s podacima u literaturi (Tomik i Podravec, 2010). Takve razlike su vjerojatno rezultat toga što su sjenice vrlo plahe, najčešće se pojavljuju pojedinačno na hranilicama te hranu odnose u grmlje gdje je pojedu. Ostale vrste dolaze na hranilište u jatima, pa su naviknute da se pri hranjenju najčešće ne obaziru na druge ptice osim kad su primorane braniti se od pojedinih nasrtljivaca. Ptice poput vrabaca, zelendura i češljugara najčešće spavaju u grmlju u skupinama što im pomaže da zajedno čuvaju toplinu za zimskih noći (Ptice.net, 2018).

Tijekom promatranog razdoblja istraživanja od početka siječnja do kraja veljače zabilježene su značajne razlike u dnevnim temperaturama zraka u rasponu od -2 °C do čak 21 °C. Uočena je povezanost količine pojedene hrane s temperaturom zraka. Iako ptice imaju mnoge morfološke i fiziološke prilagodbe (gusto paperje koje zadržava tjelesnu toplinu, noge hladnije od tijela kako bi se smanjio gubitak topline, mala količina mišića u nogama što omogućuje toleranciju na niske temperature, usporavanje metaboličkih procesa noću kako bi se očuvala energija) potrebna im je kvalitetna prehrana u dovoljnim količinama kako bi imale dovoljno energije za stvaranje topline i preživljavanje zime (Ptice.net, 2018). Tako je i ovim istraživanjem potvrđeno da ptice pojedu više hrane za hladnijih dana te kada je tlo prekriveno snijegom. Vjerojatni razlog je povećana potreba za hranjenjem i stvaranjem zaliha energije, a najbolji izvor energije su sjemenke suncokreta jer sadrže veći udio masti i bjelančevina (Ptice.net, 2018).

Povećanje dostupnosti hrane tijekom zime može utjecati na dinamiku populacije ptica mijenjajući buduće reproduktivne učinke. Veća količina hrane pospješit će sljedeću sezonu parenja i omogućiti povećanje broja potomaka. Ptice koje prežive zimsko razdoblje na područjima s dovoljno dostupne



hrane imat će veći uspjeh u razmnožavanju u usporedbi s pticama koje žive na područjima s manje dostupne hrane (Robb i sur., 2008).

Dopunsko bi hranjenje divljih ptica tijekom zime u vrtovima i dvorištima bilo poželjno jer pozitivno utječe na populacije divljih ptica koje svojim prisustvom tijekom toplijih godišnjih doba u dvorištima smanjuju brojnost štetnika kojima se hrane. Ograničenja ovog istraživanja svakako su broj mesta na kojima su promatrane ptice, ali i blizina kuća te ljudi koji vrše promatranje. Vjerojatno bi bilo više ptica da su mesta hranjenja udaljenija od kuća, ali bi to otežalo praćenje. Također je ograničenje što nisu baš sva promatranja na oba mesta vršena u isto vrijeme zbog školskih i drugih obaveza. Također promatranje nije vršeno neprekidno tijekom cijelog dana pa sigurno nisu uočene sve vrste ptica. Neprekinuto promatranje bilo bi moguće uz tehnologiju snimanja i analize snimki. No mjerjenje mase utrošene hrane ukazalo je na stvarnu potrošnju hrane tijekom cijelog dana iako nije dalo podatke o vrstama izvan vremena promatranja.

ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja donijeti su sljedeći zaključci:

- Na oba lokaliteta ukupno je zabilježeno 7 vrsta ptica, u gradskoj sredini 6, a u seoskoj 3 vrste.
- Tijekom zime ptice češće posjećuju hranilice u gradu nego na selu.
- Sve vrste sjenica preferiraju viseće hranilice.
- Češljugari, zelenduri, vrapci i sjeverne zebe preferiraju rasuto sjemenje u plitkoj posudi.
- Sve zabilježene vrste jedu sjemenke suncokreta i lojne kugle sa sjemenkama, dok se mješavinom sjemenki ne hrane.
- Povećana je potrošnja hrane u danima s nižom temperaturom zraka te kada je tlo prekriveno snijegom.
- Kiša ne utječe značajnije na zimsko hranjenje ptica.
- Dolazak ptica na hranilice i njihovo ponašanje razlikuje se među vrstama.

LITERATURA

Autohtone ptice Hrvatske 2014. http://www.ptice-hrvatske.cro.hr/index_prehrana_siemenarica.htm, pristupljeno 15. 12. 2018.

Cowie R. J., Simons J. R. 1991. Factors affecting the use of feeders by garden birds: I. The positioning of feeders with respect to cover and housing, Bird Study, 38:3, 145-150,
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00063659109477083>, pristupljeno 28. 1. 2019.

Dolenec Z. 2012. Ptice prirodnih staništa Hrvatske, Školska knjiga, Zagreb.

Dolenec Z. 2014. Ptice zimovalice i preletnice Hrvatske, Matekalo Draganović J. (ur.), Školska knjiga, Zagreb., str. 30.

Heinzel H., Fitter R., Parslow J. 1999. Ptice Hrvatske i Europe sa Sjevernom Afrikom i Srednjim istokom. HOD, Zagreb.

Krnjeta D. 2003. Ornitološki priručnik - Ptice Hrvatske, Feletar D. (ur.), Meridijani, Zagreb, str.138 – 245.

Nicolai J. 1990. Ptice pjevice, Cankarjeva založba, Ljubljana.

Ornitologija.hr 2019. Pitanja i odgovori u vezi ptica i ornitologije, <http://www.ulika.net/1/ornitologija/ornitologija-pitanja.htm>, Hrvatsko ornitološko društvo, pristupljeno 27. 1. 2019.

Oštrkapa Međurečan Ž. 2014. Privucite korisne ptice u voćnjak,
<https://arhiva.savjetodavna.hr/vijesti/6/3970/privucite-korisne-ptice-u-vocejnjak/>

Ministarstvo poljoprivrede, pristupljeno 28. 1. 2019.

Ptice.net 2018. Kako ptice prezivljavaju zimu, <http://www.ptice.net/kako-ptice-prezivljavaju-zimu/>, pristupljeno 15.12.2018.

Robb G. N., McDonald A. R., Chamberlain D. E., Reynolds S. J., Timothy J.E., Harrison T. J. E., Bearhop S. 2008. Winter feeding of birds increases productivity in the subsequent breeding season, Biology letters 4(2): 220-223;
<https://doi.org/10.1098/rsbl.2007.0622>, pristupljeno 27. 1. 2019.

Tomik A., Podravec D. 2010. Promatranje ptica, Hranjenje ptica zimi,
https://www.ptice.hr/index_promatranje_prehrana_zimi.htm, Hrvatsko društvo za zaštitu ptica i prirode, pristupljeno 15. 12. 2018.



UTJECAJ DEZODORANSA NA RAZVOJ SUNCOKRETA, BLITVE I SALATE

*Antonija Perin, 7. razred
Lana Grbin, 7. razred*

Osnovna škola Petra Preradovića, Zadar
Mentor: Mirica Brekalo

SAŽETAK

Tema istraživanja bila je istražiti kako količina dezodoransa utječe na rast i razvoj suncokreta, blitve te salate. Izabrale smo dezodorans upravo zbog toga što ga mi, ljudi, koristimo često a ne znamo kako on zapravo utječe na nas i okoliš. Cilj je istražiti kako različita količina dezodoransa s aluminijevim klorohidratom utječe na rast i razvoj suncokreta, blitve i salate. Praćene su promjene u rastu kod biljaka zalijevanih vodom i onih zalijevanih različitim količinom dezodoransa te promjene u obojenosti listova uzgojenih biljaka. Istraživanje je započeto anketiranjem 45 učenika sedmih razreda o korištenju dezodoransa. Istraživanje u trajanju od 30 dana provedeno je na zasađenim lončanicama suncokreta, blitve i salate. Od svake vrste biljaka posađene su po tri lončanice, ukupno 9 lončanica. Jedna lončanica svake vrste biljke zalijevana je isključivo vodom, druga s 1 ml dezodoransa i 9 ml vode, a treća s 3 ml dezodoransa i 7 ml vode. Biljke su bile izložene jednakoj količini svjetlosti. Svakih pet dana biljke su mjerene i fotografirane. Zaključili smo da se biljke najbolje razvijaju s vodom, a najlošije s većom količinom dezodoransa. Listovi biljaka su podvrgnuti kromatografiji. Istraživanje je ponovljeno kako bi se dobili što točniji rezultati. Zaključeno je da najviše zelene boje u listovima ima u biljkama zalijevanim vodom, a najmanje u biljkama zalijevanim smjesom od 3 ml dezodoransa i 7 ml vode. Istraživanje koje smo obavili na sjemenkama potvrdilo je da dezodorans u većoj količini nepovoljno djeluje na klijanje sjemenki.

Ključne riječi: klorofil; listovi; stabljika; kromatografija

UVOD

Često nismo svjesni koje kemijske tvari zapravo koristimo kada biramo dezodorante ili antiperspirante, niti znamo kako ti proizvodi djeluju. Znanstvenici su otkrili kako mnogi od njih sadrže štetne sastojke, posebno aluminij koji dugotrajnom upotrebotom može nepovoljno utjecati na naše zdravlje (Ghost 2012). To nas je potaklo da istražimo kako dezodoransi utječu na razvoj biljaka. Dezodoransi zaustavljaju razvoj bakterija, čime sprječavaju neugodan miris kože, a budući da su uglavnom mirisni, ti preparati djelomično ublažavaju i miris znoja. Mnogo je kemijskih sastojaka koji djeluju kao dezodoransi, a najčešće se upotrebljavaju denaturirani alkoholi triklosan i aluminij (Ghost, 2012). Triklosan je konzervans i djeluje antimikrobično i nije dovoljno istražen, no otkriveno je da u većim količinama ima izrazito štetno djelovanje za ljudsko zdravlje (izaziva oštećenja jetre, rak i slabi imunološki sustav te je opasan za okoliš (Premec, 2016).

Antiperspiranti sadržavaju kemikalije koje sprječavaju znojenje, a dezodoransi dopuštaju znojenje i suzbijaju neugodan miris znoja. Većina dezodoransa ne samo da prikriva miris znoja, nego zbog svojih antiseptičkih dodataka uništavaju bakterije koje uzrokuju taj miris. Antiperspiranti i dezodoransi mogu imati loše posljedice za zdravlje (Premec, 2016).

Medicinski stručnjaci smatraju da začepljenje pora i sprječavanje znojenja nije zdravo, jer znojenje je prirodan način na koji se hlađi naše tijelo. Prije se smatralo da su dezodoransi mnogo bezopasniji nego antiperspiranti. Istraživanja su potvrdila povezanost parabena, koje sadrže mnogi dezodoransi, s pojmom raka dojke. Nakon obdukcije tijela žena umrlih od raka dojke pronađen je paraben u tkivima dojke (Ghost, 2012). Vareško (2017) je istraživala mutagenost antiperspiranata i dezodoransa na korjenčićima luka i dokazala njihovo štetno djelovanje.



Kroz tijek projekta pokušat ćemo istražiti kako dezodorans utječe na razvoj suncokreta, blitve i salate. Navedene biljke izabrali smo zbog toga što imaju vidljive listove, cvijet i stabljiku te se utjecaj dezodoransa lako mogao uočiti. Iako se biljni organizam poprilično razlikuje od životinjskog ili pogotovo od ljudskog organizma, istraživanje smo htjele provesti na biljkama, jer u današnje vrijeme dosta smeća, među kojima se nađu i higijenske potrepštine kao i dezodoransi, završe u prirodi.

Suncokret (*Helianthus*) je rod biljaka iz porodice glavočika (Compositae), s preko 70 vrsta koje mogu biti višegodišnje ili jednogodišnje. Suncokreti mogu imati kraću ili dužu stabljiku. Razlikuju se i po veličini cvjetne glave i sjemenki. Kod uljnih kultiviranih suncokreta, stabljika može narasti do 2,2 metra visine, cvate od početka srpnja pa sve do listopada te se ulje od sjemenki koristi u prehrani (Kolar-Fodor, 2010).

Blitva (*Beta*) je rod dvogodišnjih biljaka i trajnica iz porodice Amaranthaceae. Blitva je dvogodišnja povrtna kultura te se uzgaja zbog izuzetno hranjivog lišća. U prvoj godini vegetacije razvija lisnu rozetu sastavljenu od mnoštva spiralno poredanih listova. Druge godine razvoja iz vegetativnog se pupa formira cvjetna stabljika koja naraste do dva metra visine. Uzgaja se najviše u primorskim krajevima (Milovanović, 2018).

Salata vrste majska kraljica (*Lactuca sativa* var. *capitata*) je jednogodišnja, zeljasta biljka, glavni korijen je zadebljao u gornjem dijelu. Brzo se razvija, a odrasle biljke mogu doseći dužinu od 150 cm. Prema veličini, listovi mogu biti mali s dužinom ili širinom do 15 cm ili srednje veliki s dužinom ili širinom do 18 cm. Boja listova može biti bijedozelena, žutozelena, tamnozelena i crvena. Zelena salata raste u glavicama. Kada se koristi za jelo, bere se prije cvjetanja i plodonošenja. Uzgaja se u gotovo cijelom svijetu za potrebe kućanstava i u komercijalne svrhe. Raste na bogatim, humusnim vlažnim tlima. Ako raste na suhim tlima, rano proizvodi sjeme i nije za jelo (Tomić, 1970).

Kromatografija je analitička metoda za odvajanje različitih tvari iz smjese. Mjesto na koje se nanosi uzorak zove se start, a najveća udaljenost mobilne faze od starta ove se fronta. Kada se fronta otapala približi gornjem rubu filter papira, on se izvadi 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). U sklopu ovog istraživanja, kromatografiju smo provodili da se mogu uočiti razlike u intenzitetu boja kod listova.

Cilj istraživanja je uočiti i izmjeriti razliku u veličini biljaka i promjene koje izaziva dezodorans s aluminijevim klorohidratom na rast i razvoj suncokreta, blitve i salate te istražiti ovise li opažene promjene o omjeru (količini) dezodoransa i vode. Također, cilj je i potaknuti mlade da čitaju sastave pojedinih kozmetičkih i higijenskih proizvoda te tako čuvaju svoje zdravlje, ali i istražiti koliko često djevojčice i dječaci koriste dezodoranse.

Prepostavljamo da će se biljke zalijevane vodom uz dodatak dezodoransa sporije, nepravilnije razvijati ili se uopće neće razviti, da će imati različitu boju listova, da će listovi zalijevani s većom količinom dezodoransa požutjeti i otpasti, da će postojati razlike u visini i debljini stabljike, te da će sjemenke brže prokljati pod utjecajem manje količine dezodoransa kada se uzgajaju na pamuku. Nadamo se da će rezultati ovog istraživanja potaknuti mlade da čitaju sastav određenih kozmetičkih proizvoda te na taj način paze na svoje zdravlje. Mnogi proizvodi koji se reklamiraju nisu uvijek najbolji za ljudsko zdravlje te također ambalažu ne treba bacati u prirodu jer onečišćuje okoliš (Premec, 2016).



METODE RADA

U istraživanju je korišten dezodorans (Bevola) s roll-on punjenjem, sjemenje suncokreta, blitve (domaće sjeme) i salate (majska kraljica – *Lactuca sativa* var. *capitata*, sorta: Reginadimaggio, pakira: Marcond.o.o).

Sastav dezodoransa: parabeni, ftalati, triclosan, fotoprotективna sredstva, aluminij i mnogi drugi.

Plan istraživanja:

- ✓ Anketa
- ✓ Uzgoj biljaka
- ✓ Kromatografija
- ✓ Klijanje sjemenki na pamuku.

Anketa

Anketa je provedena na 45 učenika sedmih razreda. Anketom je istraženo koliko učenika koristi dezodorans i koliko često ga primjenjuju. Rezultati će biti prikazani u tablici 1.

Uzgoj biljaka

U devet posuda za sadnju stavljeno je po 300 g humusnog supstrata. Na posude su stavljene oznake, S1, S2, B, B1, B2, SA, SA1, SA2. Posude s oznakama S, B i SA zalijavane su vodom te su služile kao kontrolne posude. Odabrane su visoke koncentracije dezodoransa da bi učinak dezodoransa bio vidljiviji. Posude s oznakama S1, B1 i SA1 zalijavane su s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode. Posude s oznakama S2, B2 i SA2 zalijavane su s 3 ml dezodoransa i 7 ml vode. U svaku posudu je stavljeno 20 sjemenki na dubinu od 1 cm. Odabrane su visoke koncentracije dezodoransa da bi učinak dezodoransa bio vidljiviji. U posude s oznakama S, S1 i S2 zasađeno je sjemenje suncokreta, u posude s oznakama B, B1 i B2 blitva i u posude s oznakama SA, SA1 i SA2 salata. Sve posude su smještene na jednakoj temperaturi i pod jednakim svjetlosnim uvjetima. U razdoblju od mjesec dana praćen je razvoj biljaka.

Svaki peti dan pregledavana je klijavost sjemenki i razvoj biljke. U isto vrijeme metrom smo mjerili visinu i debljinu stabljika. Sve promjene bilježene su tablično, grafički i fotografirane mobitelom. U tablici će biti prikazana prosječna visina biljke. Prosječna visina dobije se zbrajanjem svih visina određenih biljaka podijeljena s brojem biljaka. Napravili smo još jedno istraživanje, sjemenke su stavljene na pamuk. U tom istraživanju uspoređivao se broj proklijalih sjemenki.

Kromatografija

Kromatografija je fizikalna metoda koja se koristi za razdvajanje sastojaka homogene smjese. Odijeljeni sastojci vide se kao obojene vrpce po kojima je ta tehnika dobila ime (grč. Chroma= boja).

Od uzgojenih biljaka iz devet posuda uzeti su listovi. Listovi su izrezani na manje komadiće, stavljeni u tarionik i zgnječeni batićem. Izrezano je devet komada filter papira i stavljeno iznad petrijeve zdjelice. Na svaki filter papir kapnuta je tekućina dobivena od zgnječenih listova i alkohola. U drugu petrijevu zdjelicu ulili smo destiliranu vodu koja je postupno dokapavana, kap po kap, iznad mjesta gdje je kapnuta tekućina od zgnječenih listova. Prije svake kapi pričekalo se da filter papir upije vodu. Postupak je ponavljan sve dok su vidljive promjene (odvajanje boja), nakon toga su filter papiri (9) ostavljeni da se osuše. Nakon sušenja na filter papiru vide se odijeljeni sastojci kao obojene vrpce. Iako sastav pigmenata neće pokazati štetni učinak dezodoransa, omogućit će nam da vidimo razliku boja između



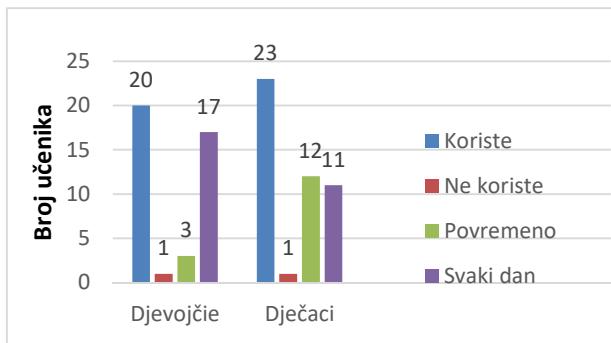
listova biljaka zalijevanih dezodoransom i vodom te listova biljaka zalijevanih isključivo vodom. Obojene vrpce uspoređene su i slikane mobitelom.

Klijanje sjemenki na pamuku

Postupak smo ponovili, ali sjemenke su sijane u prozirne staklene posude, a na dno je stavljen pamuk umjesto zemlje. Svaka je posuda označena određenim oznakama, oznake su iste kao i kod biljaka (S, S1, S2, B, B1, B2, SA, SA1, SA2). Posude su postavljene na toplo mjesto te se pregledavala klijavost sjemenki i uspoređivala veličina korijena. Na pamuk smo stavili dvadeset sjemenki svake biljke, sve biljke primale su jednaku količinu svjetlosti i topline. Postupak istraživanja trajao je 20 dana. Rezultate smo bilježili i fotografirali.

REZULTATI

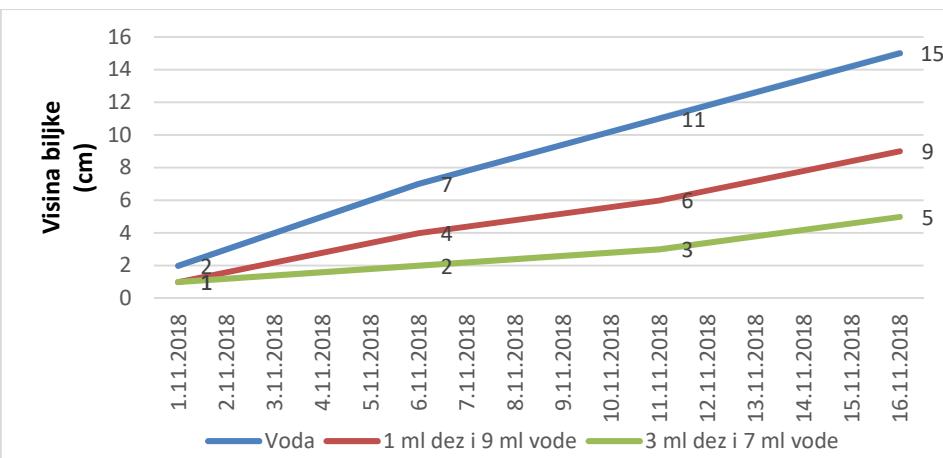
Među učenicima sedmih razreda proveli smo anketu. Sudjelovalo je 45 učenika, 21 djevojčica i 24 dječaka (slika 1). Slika 1 prikazuje da samo dvoje učenika, odnosno jedna djevojčica i jedan dječak ne koriste dezodoranse ili antiperspirante. Utvrđeno je da 17 djevojčica i 11 dječaka koristi dezodorans svaki dan. Povremeno dezodorans koristi 12 dječaka i 3 djevojčice.



Slika 1. Ankete o korištenju dezodoransa kod djevojčica i dječaka

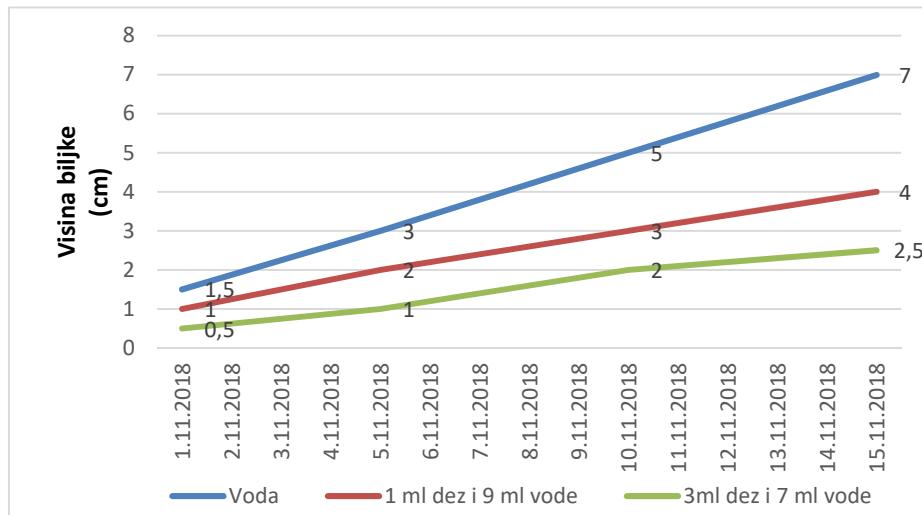
Prosječna visina stabljike suncokreta, blitve i salate zalijevanih s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode, s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode te samo vodom prikazani su na slikama 2, 6 i 10.

Slika 2 prikazuje razvoj suncokreta. Suncokret zalijevan vodom razvio se do visine 15 cm. Suncokret zalijevan s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode razvijao se jednoliko, iako se razvijao slabije od suncokreta zalijevanog isključivo vodom. Suncokret zalijevan s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode razvio se najslabije, no ipak razvijao se jednoliko. Suncokret je niknuo 1. 11. 2018., što znači da je i prvo mjerjenje bilo 1. 11. 2018., a svako slijedeće 5 dana kasnije. Dana 1. 11. 2018. Stabljika suncokreta zalijevanog vodom iznosila je 2 cm, stabljika suncokreta zalijevanog s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode iznosila je 1 cm, stabljika suncokreta zalijevanog s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode iznosila je 1 cm. Na posljednjem mjerjenju, 16. 11. 2018., stabljika suncokreta zalijevanog vodom iznosila je 15 cm, stabljika suncokreta zalijevanog s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode iznosila je 9 cm, stabljika suncokreta zalijevanog s 3 ml dezodoransa i 7 ml vode iznosila je 5 cm (slika 2).



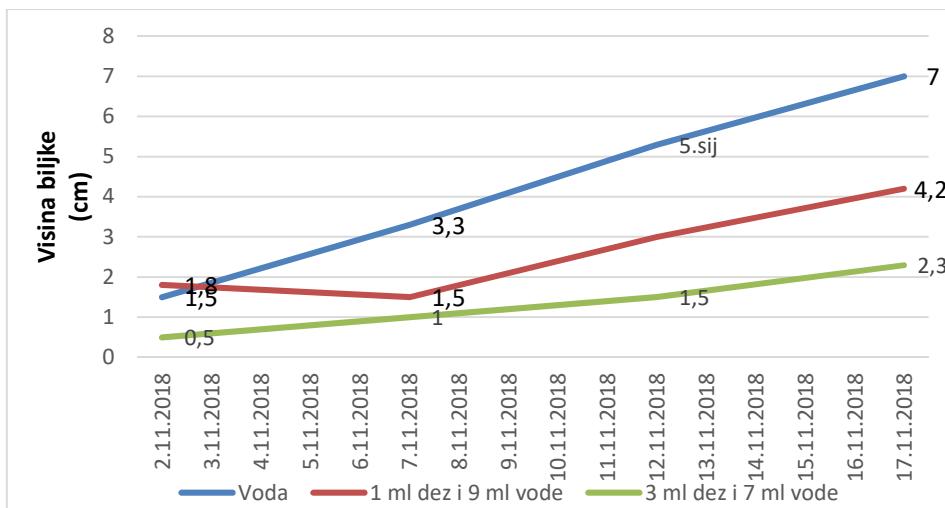
Slika 2. Visina stabljike suncokreta zalijevanog s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode, 1 mL dezodoransa i 9 mL vode te vodom

Blitva zalijevana 1 mL dezodoransa i 9 mL vode razvijala se jednoliko, blitva zalijevana s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode razvila se slabije. Blitva je prokljala 1. 11. 2018., nakon tog datuma mjerilo se svaki peti dan. Zapisivala se prosječna duljina stabljike. Zadnje mjerjenje bilo je 15.11.2018. Blitva zalijevana vodom iznosila je 6,9 cm, blitva zalijevana s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode iznosila je 3,8 cm i blitva zalijevana s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode iznosila je 2 cm (slika 3). Uzgoj biljaka se i dalje pratio.



Slika 3. Visina stabljike blitve zalijevane s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode, 1 mL dezodoransa i 9 mL vode te vodom

Salata je niknula 2. 11. 2018., dan nakon blitve, prvo mjerjenje (prvi tjedan) bilo je 2. 11. 2018., drugo mjerjenje (drugi tjedan) bilo je 7. 11. 2018., treće mjerjenje (treći tjedan) bilo je 12. 11. 2018., četvrto mjerjenje (četvrti tjedan) bilo je 17. 11. 2018. Uzgoj biljaka je nastavljen. 2. 11. 2018. salata zalijevana vodom iznosila je 1,5 cm, salata zalijevana 1 mL dezodoransa i 9 mL vode iznosila je 0,8 cm, salata zalijevana s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode iznosila je 0,5 cm. Na posljednjem mjerjenju, salata zalijevana vodom iznosila je 7 cm, salata zalijevana s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode iznosila je 4,2 cm, salata zalijevana s 3 mL dezodoransa te 7 mL vode iznosila je 2,3 cm (slika 4).



Slika 4. Visina stabljike salate zalijevane s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode, 1 mL dezodoransa i 9 mL vode te vodom

Kromatografska analiza listova suncokreta, blitve i salate dala je sljedeće rezultate. Vrpca boje kod suncokreta, isto kao i kod salate i blitve, imala je najviše sljedova boje kod biljke zalijevane vodom, a najmanje kod biljke zalijevane s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode (slike 5, 6, 7). Vrpca boje na filter papiru kod blitve bila je slična kao kod salate samo što je kod svakog uzorka prevladavalo više žute boje (slike 8, 9, 10). Vrpca boja na filter papiru kod salate zalijevane isključivo vodom imala je više sljedova zelene boje. Vrpca boje kod salate zalijevane 1 mL dezodoransa i 9 mL vode imala je također dosta sljedova zelene boje miješane s žutom bojom. Vrpca boje na filter papiru s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode imala je više sljedova žute boje te malo sljedova zelene (slike 11, 12, 13).

Klijanje sjemenki

Od ukupno 20 posađenih sjemenki suncokreta, 17 ih je pravilno niknulo. Prosječna duljina korjenčića bila je 0,8 mm. Sjemenke su posađene 20. Veljače te su niknule 23. veljače. Sjemenke suncokreta zalijevane s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode razvile su se malo slabije od onih zalijevanih vodom. Od 20 posađenih niknulo ih je 15. Prosječna duljina je bila 0,6 mm. Sjemenke su posađene 20. veljače, a niknule su 25.veljače. Zadnje slikanje i mjerjenje bilo je 5.ožujka. Sjemenke suncokreta zalijevane s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode, razvile su se najgore. Od 20 posađenih, 13 ih se razvilo. Prosječna duljina korjenčića bila je 0,45 mm. Sjemenke su posađene 20. veljače, a niknule su 25.veljače, zadnje mjerjenje i slikanje bilo je 5.ožujka.



Slika 5. Kromatografija suncokreta zalijevanog vodom (lijevo); Slika 6. Kromatografija suncokreta zalijevanog 1 mL dezodoransa i 9 mL vode (sredina); Slika 7. Kromatografija suncokreta zalijevanog s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode (desno)



Slika 8. Kromatografija blitve zalijevane vodom (lijevo); Slika 9. Kromatografija blitve zalijevane 1 mL dezodoransa i 9 mL vode (sredina); Slika 10. Kromatografija blitve zalijevane s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode (desno)



Slika 11. Kromatografija salate zalijevane vodom (lijevo); Slika 12. kromatografija salate zalijevane s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode (sredina); Slika 13. Kromatografija salate zalijevane s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode (desno)

Korjenčići blitve zalijevani vodom razvijali su se najbolje. Od ukupno 20 posađenih sjemenki, 18 ih je pravilno niknulo. Prosječna duljina korjenčića bila je 1 cm. Sjemenke su posađene 20. veljače te su niknule 23. veljače. Zadnje mjerjenje i slikanje bilo je 3. ožujka. Korjenčići blitve zalijevani s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode razvili su se malo slabije od onih zalijevanih vodom. Od 20 posađenih sjemenki, niknulo ih je 15. Prosječna duljina korjenčića je bila 0,4 mm. Sjemenke su posađene 20. veljače, a niknule su 24. veljače. Zadnje slikanje i mjerjenje bilo je 4. ožujka. Korjenčići blitve zalijevani s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode razvili su se najgore. Od 20 posađenih sjemenki, 12 ih se razvilo. Prosječna duljina korjenčića bila je 0,3 mm. Sjemenke su posađene 20. veljače, a niknule su 26. veljače, zadnje mjerjenje i slikanje bilo je 6. ožujka.

Korjenčići salate zalijevane vodom razvijali su se najbolje. Od ukupno 20 posađenih sjemenki, 16 ih je pravilno niknulo. Prosječna duljina korjenčića bila je 0,6 mm. Sjemenke su posađene 20. veljače te su niknule 22. veljače. Zadnje mjerjenje i slikanje bilo je 2. ožujka. Korjenčići salate zalijevane s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode razvili su se malo slabije od onih zalijevanih vodom. Od 20 posađenih sjemenki, niknulo ih je 14. Prosječna duljina korjenčića bila je 0,3 mm. Sjemenke su posađene 20. veljače, a niknule su 24. veljače. Zadnje slikanje i mjerjenje bilo je 4. ožujka. Korjenčići salate zalijevani s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode razvili su se najgore. Od 20 posađenih sjemenki, 12 ih se razvilo. Prosječna duljina korjenčića bila je 0,2 mm. Sjemenke su posađene 20. veljače niknule su 25. veljače, zadnje mjerjenje i slikanje bilo je 5. ožujka.



RASPRAVA

Rast i razvoj biljaka ovisi o mnogim vanjskim čimbenicima te se smatra da i različite tekućine za zalijevanje kao vanjski čimbenici mogu utjecati na promjene u brzini i kvaliteti rasta i razvoja biljke. Istraživanjem su potvrđeni rezultati istraživanja Tomić (1970), da je voda najbolja za razvoj biljaka bez dodanih kemijskih tvari.

Praćenjem rasta i razvoja biljaka utvrđeno je da se u početku biljke zalijevane smjesom od 1 mL dezodoransa i 9 mL vode razvijaju jednako kao i one zalijevane samo vodom. Nakon 10 dana rast biljaka zalijevanih smjesom od 1 mL dezodoransa i 9 mL vode postao je neujednačen. Biljke zalijevane sa 7 mL vode i 3 mL dezodoransa slabije su se razvijale, stabljika im je od početka bila jako tanka te se listovi nisu pravilno razvili, stabljike su im bile najkraće te su se sve biljke zalijevane takvom smjesom nakon otprilike dvadeset dana osušile. Rezultati potvrđuju točnost naših hipoteza o negativnom učinku dezodoransa na razvoj biljaka. Biljka se počela tanjiti te listovi propadati. Biljke zalijevane s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode razvijale su se nešto bolje od onih zalijevanih s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode, stabljike su im bile malo duže i osušile su se nakon otprilike dvadeset i pet dana. Biljke zalijevane samo vodom su se normalno razvijale, stabljike su im bile najduže i najdeblje, listovi su se pravilno razvijali tijekom istraživanja. Dobiveni rezultati potvrđuju da je voda najbolja tekućina za razvoj biljke i to je u skladu s podatcima Bird (2005).

Na kromatogramima pojedinih uzoraka uzgojenih biljaka uspoređivane su linije prema intenzitetu boje. Intenzitet boje i debljina pojedine linije mogu ukazati na postojanje razlika u količinama pojedinih sastojaka u uzorcima. Listovi uzgojenih biljaka nakon urađene kromatografije pokazuju sličan slijed boja. Kod biljaka zalijevanih vodom, prema očekivanju, bilo je najviše sljedova zelene boje što je ukazivalo na najveću količinu klorofila. U biljaka zalijevanih s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode prevladavala je žuta boja što upućuje na manju količinu klorofila (zelene boje) i dokazuje da dezodorans utječe na boju listova. Kod biljaka zalijevanih s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode bio je slijed boja miješanja žute i zelene. Istraživanje je potvrdilo našu pretpostavku da dezodorans utječe na rast biljke i na intenzitet boje u listovima. Rezultati dobiveni metodom kromatografije nisu sasvim precizni jer se temelje na procjenama pruga na kromatogramu. Analizu bi bilo potrebno provesti izravno na pločama pod UV-lampom jer naše fotografije nisu najbolje prikazivale rezultate zbog slabog osvjetljenja. Manja odstupanja u nekim rezultatima mogu se pripisati prilikom očitavanja pojedinih rezultata npr. Procjena intenziteta boja kod kromatografije. U sljedećoj fazi istraživanja trebalo bi raditi s više serija mjerena.

Posadile smo sjemenke biljaka na podlogu od pamuka kako bismo na njima ponovno provjerile rezultate dobivene u lončanicama. Rezultati su bili slični, odnosno najslabije su se razvijali korjenčići sve tri vrste biljaka zalijevani s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode. Najbolje su se razvijali korjenčići zalijevani isključivo vodom. Sjemenke zalijevane smjesom od 1 mL dezodoransa i 9 mL vode razvijale su se bolje nego one zalijevane s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode, no ipak slabije nego one zalijevane vodom. Dobiveni rezultati potvrđuju da dezodorans utječe na kljanje sjemenki i razvoj korjenčića što je u skladu s podacima autorice Vareško (2017), koja navodi da je morfologija korjenčića promijenjena u svim koncentracijama većim od 5% i kod antiperspiranta i dezodoransa.

Provedenom anketom (45 učenika) pokazalo se da djevojčice dezodorans koriste češće i više od dječaka. Dok većina djevojčica dezodorans koristi svakodnevno, većina dječaka ga koristi povremeno.



Dobiveni rezultati potvrđuju našu pretpostavku da djevojčice više koriste dezodoranse. Od 44 ispitanih učenika samo 2 učenika, odnosno jedna djevojčica i jedan dječak, ne koriste dezodorans.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja razvoja biljaka zalijevanih vodom uz dodatak dezodoransa doneseni su slijedeći zaključci:

- ➊ Dezodorans negativno utječe na rast i razvoj suncokreta, blitve i salate.
- ➋ Biljke zalijevane s 1 mL dezodoransa i 9 mL vode razvijale su se dobro, stabljike su im bile čvrste, no nakon 15-ak dana, za razliku od biljaka zalijevanih vodom, izgubile su boju te počele venuti.
- ➌ Biljke zalijevane s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode od početka su se razvijale slabije od kontrolne skupine, stabljike su im se sporije razvijale te napisljeku bile niže i brzo počele propadati. Salata je uvenula nakon šesnaest dana, blitva nakon sedamnaest, a suncokret nakon devetnaest dana.
- ➍ Biljke zalijevane s 3 mL dezodoransa i 7 mL vode su imale najmanje klorofila (zelene boje) u listovima.
- ➎ Rezultati ukazuju na potrebu dodatnog označavanja sastojaka dezodoransa na tržištu kako bi se saznalo na koji način takvi proizvodi djeluju na naše zdravlje.

LITERATURA

- Bird R. 2005. Vrtlarstvo u voćnjaku i u povrtnjaku. Leo-commerce, Rijeka. Str. 176-177.
- Ghost M. 2012. Dezodoransi protiv znojenja najvjerojatnije doprinose raku dojke. Znanost, hrvatski popularno-znanstveni portal. <https://geek.hr/znanost>, pristupljeno 16. 10. 2018.
- Kolar-Fodor S. 2010. Suncokret, jednogodišnje cvijeće. https://www.biovrt.com/jednogo_dišnje_cvijeće/suncokret-helianthus-annuus/, pristupljeno 12. 10. 2018.
- Milovanović LJ. 2018. <https://www.agroklub.com/sortna-lista/povrće/blitva-lisnata-134/>, pristupljeno 16.10. 2018.
- Premec Đ. 2016. Utjecaj kozmetičkih proizvoda na okoliš i zdravlje. Zagreb. Str. 4-8.
- Tomić S. A. 1970. Povrtlarstvo. Univerzitet u Sarajevu. Str. 216- 224.
- Vareško A. 2017. Ispitivanje mutagenosti antiperspiranata i dezodoransa na korjenčićima luka. Bioznalac 3: 149-160, pristupljeno 12. 10. 2018.



UČINAK NEIONIZIRAJUĆEG ELEKTROMAGNETSKOG ZRAČENJA WI-FI UREĐAJA NA PAPUČICU (*Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1833)

Katarina Vilić, 7. razred
Vita Šeremet, 7. razred

OŠ Ljudevita Gaja, Zaprešić
Mentor: Đurđica Patafta

SAŽETAK

Podatci o učincima neionizirajućeg elektromagnetskog zračenja na papučice (*Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1833) vrlo su oskudni. Cilj istraživanja bio je utvrditi broj, pokretljivost i oblik papučica nakon izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača (engl. router). U pokusu su korištene papučice (*Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1833) izložene elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača frekvencijskog pojasa od 2,4 GHz i jakosti električnog polja od 9,44 V/m, 73,20 mV/m i 80,01 mV/m. Jakost električnog polja određena je prijenosnim mjeračem elektromagnetskog zračenja EXTECH EMF-450. Svi promatrani pokazatelji (pokretljivost, broj i širina papučica, veličina hranidbenih mjehurića i konjugacija) određeni su pod svjetlosnim mikroskopom. Dobiveni rezultati pokazali su da izlaganje papučica neionizirajućem elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača frekvencijskog pojasa od 2,4 GHz i jakosti električnog polja od 9,44 V/m smanjuje pokretljivost i broj papučica, uzrokuje sužavanje papučica te smanjuje konjugaciju između jedinki i veličinu hranidbenih mjehurića. Nasuprot tome, jakost električnog polja od 73,20 mV/m i 80,01 mV/m ne uzrokuje vidljive promjene na papučicama.

Ključne riječi: Wi-Fi usmjerivač; router; pokretljivost; hranidbeni mjehurići; konjugacija

UVOD

Bežični prijenos informacija danas je poprimio globalne razmjere te je tako, osim životne, postao gotovo i neizostavni dio školske svakodnevne. Wi-Fi tehnologija pomoću usmjerivača (engl. router) omogućuje radijsko povezivanje s računalnom mrežom putem elektromagnetskih polja radijske frekvencije (RF) pri čemu pružaju slobodu kretanja učenika po školi s prijenosnim računalima, tabletima ili pametnim telefonima (Prlić i sur., 2017). Mobilni, tableti, bežični kućni telefoni, bežični usmjerivači i ostali uređaji za bežičnu komunikaciju stvaraju elektromagnetska polja u frekvencijskom rasponu od 300 kHz do u 300 GHz (Trošić i sur., 2010). Brojna istraživanja pokazali su da neionizirajuće zračenje uzrokuje nepoželjne učinke na ljudi i životinje (Macan i Turk, 2010). Funk i sur. (2009) pokazali su da radiofrekvencijsko elektromagnetsko zračenje može uzrkovati promjene staničnih funkcija u ljudi. Postotak smrtnosti štakora nakon izlaganja na frekvenciji mobilnog telefona istraživali su Adang i sur. (2009). Oni su pokazali da izlaganje štakora u trajanju od dva sata dnevno tijekom 18 mjeseci uzrokuje značajno veću smrtnost tj. dvostruko povećava smrtnost u odnosu na kontrolnu skupinu štakora. Promjene izgleda i oblika te pokretljivost papučica nakon njihovog izlaganja zračenju mobitela istraživali su Cammaerts i sur. (2011). Oni su utvrdili da se papučice nakon dvominutnog izlaganja dolaznom pozivu mobitela sporije i vijugavo kreću te da im je značajno narušena fiziologija i oblik. Kako je u našoj školi pristup internetu omogućen putem Wi-Fi usmjerivača zanimalo nas je utječe li takvo zračenje na jednostanične organizme. Cilj istraživanja bio je utvrditi učinak neionizirajućeg elektromagnetskog zračenja Wi-Fi usmjerivača na papučice (*Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1833). Za potrebe ovog istraživanja koristili smo papučice jer su jednostanični organizmi koji se lako uzgajaju i promatraju školskim svjetlosnim mikroskopom.



Papučice (*Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1833) su prototisti, heterotrofni jednostanični organizmi koji imaju stalan oblik tijela. Tijelo im je obavijeno prozirnom membranom (pelikulom) na kojoj se nalaze brojne trepetljike za kretanje. Papučice imaju stanična usta na koja se nastavlja stanično ždrijelo. Tu se stvaraju hranidbeni mjehurići koji odlaze u citoplazmu. Dišu difuzijom plinova preko površine tijela. Imaju veliku i malu staničnu jezgru. Papučice se najčešće razmnožavaju poprečnom diobom stanica (nespolno). Kod njih se javlja i tzv. spolno razmnožavanje koje omogućuje pojavu jedinki s novim kombinacijama nasljednih obilježja, a time i bolju prilagodljivost na životne uvjete u okolišu. Dvije papučice se spoje malim citoplazmatskim mostom u području staničnih usta. Svaka spojena papučica kroz mostić šalje dio male jezgrice u citoplazmu druge stanice i tako izmjenjuju genetički materijal. Ti se djelići kasnije spajaju s nepokretnim dijelom male jezgrice druge papučice. Proces se zove konjugacija. Cijeli proces traje nekoliko sati. Smatra se da konjugacija pomlađuje jedinke koje su se dugo razmnožavale dijeljenjem i da je to potrebno kako bi se nastavila obična poprečna dioba (Bačić i Erben, 1997).

Budući da su u prethodno opisanim istraživanjima korištene frekvencije mobilnih uređaja, pretpostavljamo da će i frekvencija Wi-Fi usmjerivača postavljenih u našoj školi uzrokovati učinke na papučice. Kako su literaturni podatci o utjecaju zračenja Wi-Fi usmjerivača na jednostanične organizme oskudni, činilo nam se vrlo zanimljivim načiniti takvo istraživanje na papučice. S obzirom na to da intenzitet zračenja opada s kvadratom udaljenosti od usmjerivača očekuju se značajnije promjene u papučica koje će biti smještene u neposrednoj blizini usmjerivača.

METODE RADA

Kao pokušni organizam na kojem su promatrani učinci neionizirajućeg elektromagnetskog zračenja korištena je kultura papučica (*Paramecium caudatum*, Ehrenberg, 1833). Istraživanje je načinjeno u razdoblju od 5. veljače 2019. do 27. veljače 2019. godine.

Održavanje i priprema kulture papučica za istraživanje

Do provedbe istraživanja kultura papučica održavana je u staklenici od 500 ml. Staklenka s kulturom papučica držana je otklopljena na prozorskoj dasci pri sobnoj temperaturi (20–25 °C) uz prirodno svjetlo. Svaki drugi tjedan u kulturu papučica dodavana je suha kora banane veličine 1 x 1 cm, a po potrebi se dolijevala odstajala vodovodna voda. Iz staklenke za održavanje pripremljene su tri nove kulture papučica. Uz prethodno lagano miješanje, iz staklenke za održavanje kulture papučica odliveno je 100 mL u tri nove staklenke te je dodano 200 mL odstajale vodovodne vode. U svaku novu staklenku dodane su četiri suhe kore banane dimenzija 1 x 1 cm.

Položaj kultura papučica za istraživanje

Slučajnim odabirom, dvije staklenke s kulturom papučica, postavljene su u učionici iz informatike. Pri tome jedna je staklenka (S1) postavljena na udaljenosti od 7 cm od antene Wi-Fi usmjerivača dok je druga staklenka (S2) postavljena na udaljenosti od 8 m od antene Wi-Fi usmjerivača (slika 1). Obje su staklenke bile izložene zračenju neprekidno tijekom 30 dana. Treća staklenka (S3) postavljena je u učionici iz biologije na najvećoj mogućoj udaljenosti od Wi-Fi usmjerivača postavljenog u školi (Wi-Fi usmjerivač smješten je izvan učionice cca. na 6m udaljenosti od kulture papučica) (slika 2). Sve tri skupine (staklenke) papučica bile su izložene istoj temperaturi, jakosti svjetlosti te količini i režimu hranjenja.



Slika 1. Položaji neozračenih i ozračenih papučica iz Wi-Fi ruterom u učionici informatike



Slika 2. Položaj kontrolne skupine papučica u učionici biologije

Wi-Fi usmjerivač i mjerjenje jakosti električnog polja

U istraživanju korišten je Wireless N Router, TP – LINK (model TL- WR740N) frekvencijskog pojasa od 2,4 GHz. Jakosti električnog polja i gustoće snage zračenja Wi-Fi usmjerivača izmjereno je prijenosnim mjeračem elektromagnetskog polja marke EXTECH, model EMF450 (slika 3). Mjerač EXTECH obuhvaća raspon mjerena frekvencija od 50 Hz do 3,5 GHz s očitavanjem gustoće snage u rasponu od 0,02 $\mu\text{W}/\text{m}^2$ do 554,6 mW/m 2 , odnosno očitavanjem jakosti električnog polja u rasponu od 36,1 mV/m do 14,46 V/m. Jakost električnog polja i gustoća snage radiofrekvencijskog zračenja Wi-Fi usmjerivača mjerena je u tri navrata. Prilikom svakog od tri mjerena utvrđena je približno jednaka vrijednost. Prosječna vrijednost gustoće snage i jakosti električnog polja Wi-Fi usmjerivača prikazana je u tablici 1.



Slika 3. Mjerjenje jakosti električnog polja

Tablica 1. Prosječna jakost električnog polja i gustoća snage Wi-Fi usmjerivača frekvencijskog pojasa od 2,4 GHz

Uzorci kulture papučica / udaljenost od Wi-Fi usmjerivača	Prosječna jakost el. polja	Prosječna gustoća snage
S1 / 7 cm	9440 mV/m	236,37 mW/m 2
S2 / 8 m	73,20 mV/m	14, 21 $\mu\text{W}/\text{m}^2$
S3 / 6 m	80,01 mV/m	17,02 $\mu\text{W}/\text{m}^2$

Priprema preparata i brojenje papučica

Za pripremu preparata i mikroskopiranje koristili smo predmetnicu, pokrovnicu (15 x 15 mm), iglice za mikroskopiranje, 3 kapaljke za svaku skupinu papučica, stakleni štapić te 2 svjetlosna mikroskopa marke Bresser GmbH (slike 4 i 5). Radi što ravnomjernije raspodjele papučica po staklenci, svaka je skupina dobro promiješana staklenim štapićem prije uzorkovanja. Iz svake skupine (staklenke) kapaljkom je uzorkovano 5 kapljica (ukupno je uzeto 15 kapljica). Nakon kapanja uzorka papučica na predmetnicu postavljena je pokrovnica. U sve tri skupine (S1, S2, i S3) papučice su brojene na površini pokrovnice od 15 x 15 mm. Nakon izoštravanja slike pod mikroskopom pri povećanju od 40x, papučice



su brojane od donjeg pa do gornjeg ruba pokrovnice pomicući od lijevog do desnog ruba, i tako redom po cijeloj površini od 225 mm². Sveukupno je po svakom preparatu (predmetnici) pregledano 15 vidnih polja. Broj papučica je prebrojavan u pet kapljica iz iste skupine kroz šest promatranja i to: 3., 7., 15., 19., 23. i 28. dana nakon postavljanja istraživanja. Sveukupno je napravljeno 90 mikroskopskih preparata (15 predmetnica x 6 promatranja = 90). Prosječni broj papučica (N_p) izračunat je prema formuli:

$$N_p = \frac{N_1+N_2+N_3+N_4+N_5}{5}, \text{ gdje je: } N_1-N_5 - \text{broj papučica u preparatu}$$



Slika 4. Pribor za pripremu preparata (lijevo) i školski mikroskop (desno)

Fotografiranje papučica i obrada fotografija

Papučice su fotografirane kroz okular mobitelom Samsung Galaxy A5 (2016) preko okulara mikroskopa na povećanjima od 400x i 1000x. Fotografije su na računalu izrezivane tako da njihova veličina bude približno jednaka kako bi se mogle usporediti promatrane skupine papučica. Oblici papučica S1, S2 i S3 skupine uspoređivane su izravno pri mikroskopiranju zatim putem slika načinjenih mobitelom i na računalu.

Određivanje pokretljivosti papučica

Pokretljivost se procjenjivala usporednim promatranjem preparata na dva mikroskopa i to: S1 i S2 skupine te S2 i S3 skupine. Pokretljivost se ocjenjivala dodjelom bodova na sljedeći način: a) ako se nije uočila bitna razlika u kretanju između dviju skupina dodijeljeno je 5 bodova; b) ako se oko 50 % promatranih papučica sporije kretalo dodijeljeno je 3 boda i c) ako su se papučice pretežno sporije kretale dodijeljeno je 1 bod.

Određivanje oblika papučica

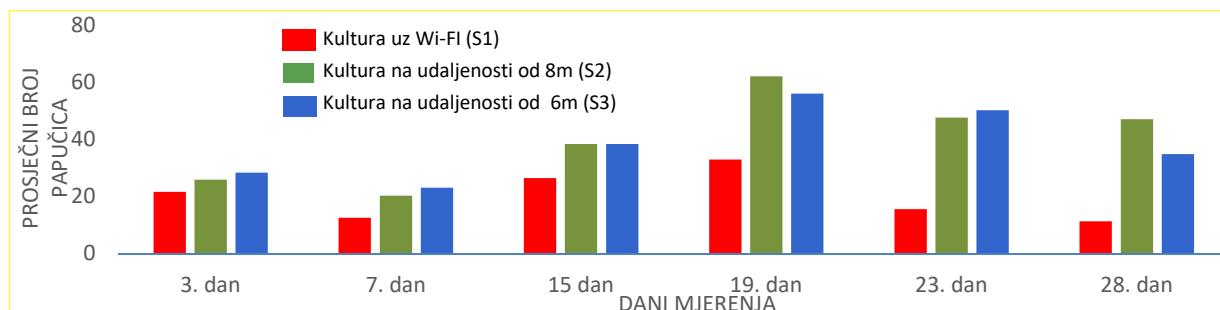
Širina papučica određivana je izravno pod mikroskopom uspoređivanjem S1 s S3 skupinom odnosno S2 s S3 skupinom. Dodatno, razlike su se određivale na načinjenim fotografijama. Širina papučica ocjenjivana je dodjelom bodova: a) ako nije bilo razlika u većini prisutnih papučica dodijeljeno je 5 bodova, b) ako je bilo podjednako užih i širih papučica dodijeljeno je 3 boda te c) ako su pretežno bile uže, dodijeljeno je 1 bod. Prisustvo konjugacija, hranidbenih mjehurića u citoplazmi papučica i poprečnih dioba u sve tri skupine određivana je prilikom brojanja papučica na jednakom broju predmetnica i načinu opisanom pod Priprema preparata i brojenje papučica.

REZULTATI

Rezultati prosječnog broja papučica tijekom mjesec dana izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača prikazani su na slici 6.



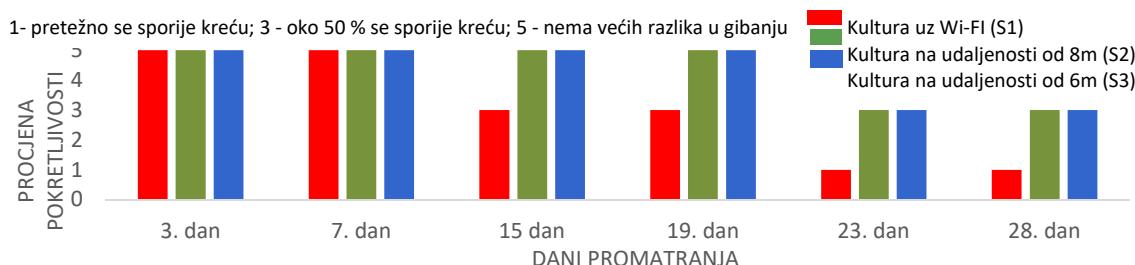
Na slici 6 vidljivo je da na početku istraživanja tj. 3. dana istraživanja nije bilo većih razlika u broju papučica unutar svih skupina. Međutim, broj papučica u skupini S1 tj. kulturi papučica smještenih uz Wi-Fi usmjerivač a u odnosu na ostale dvije skupine S2 i S3 bio je stalno manji od 7. do 28. dana istraživanja. Najznačajniji pad bio je tijekom 23. i 28. dana istraživanja.



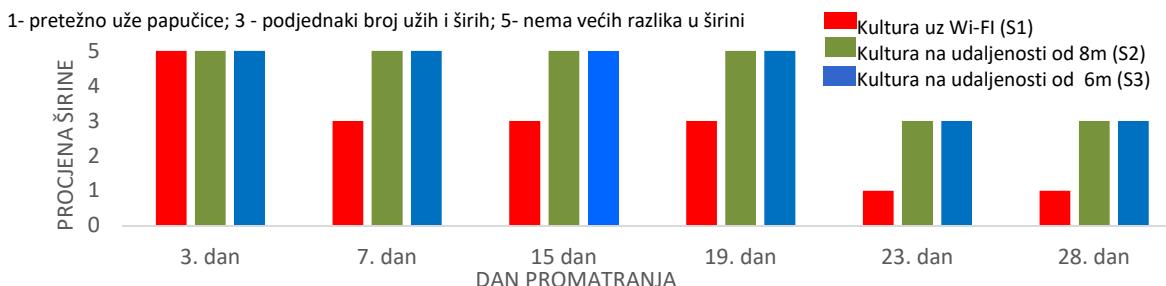
Slika 6. Prosječan broj papučica tijekom izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača

Rezultati pokretljivosti papučica tijekom mjesec dana izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača prikazani su na slici 7.

Na slici 7 uočljivo je da s duljinom ozračivanja papučica opada njihova pokretljivost. Najveći pad pokretljivosti zabilježen je 23. i 28 dana u kulturi papučica koja je bila smještena na udaljenosti od 7cm od Wi-Fi usmjerivača u odnosu na ostale dvije skupine. Pokretljivost papučica u S2 i S3 skupini nisu se tijekom cijelog razdoblja istraživanja međusobno razlikovale.



Slika 7. Pokretljivosti papučica tijekom izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača



Slika 8. Širina papučica tijekom izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača

Fotografije najčešćeg oblika papučica u pet preparata iz svake istraživane skupine prikazane su u tablici 2. Iz tablice 2 mogu se razabratiti tri konjugacije u S2 i S3 skupini papučica i to 19. dana istraživanja, dok se 23. dana može uspješno zamijetiti i poprečna dioba. Paralelnim mikroskopiranjem 15. dana promatranja kod obje skupine papučica udaljenih od Wi-Fi usmjerivača tj. S2 i S3 skupine papučica uočen je veći broj hranidbenih mjehurića kao i njihov veći oblik. Hranidbeni mjehurići kod papučica



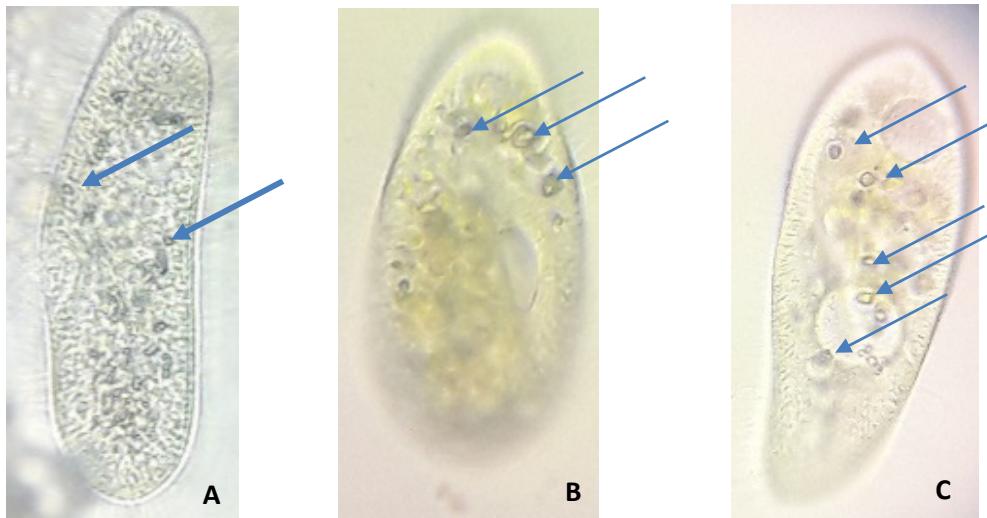
držanih uz Wi-Fi usmjerivač (S1 skupina) bili su znatno tanji i teško uočljivi odnosno vidjeli su se kao male točkice (slika 9). 23. dana promatranja papučica u kulturi papučica držanih na 7 cm udaljenosti od Wi-Fi usmjerivača uočena je vrlo velika i izgledom neuobičajena papučica (slika 10).

Tablica 2. Oblici papučica tijekom izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača pod povećanjem od oko 1000 puta

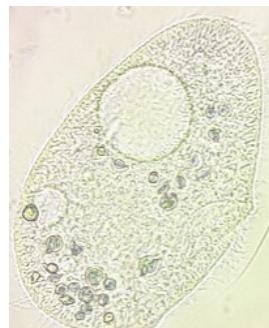
DAN PROMATRANJA	UZORCI KULTURE PAPUČICA		
	S1 (7 cm od Wi-Fi usmjerivača)	S2 (8 m od Wi-Fi usmjerivača)	S3 (6 m Wi-Fi usmjerivača)
3. DAN			
7. DAN			
15. DAN			
19. DAN			
23. DAN			
28. DAN			

Rezultati broja konjugacija papučica tijekom mjesec dana izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača prikazani su na slici 11.

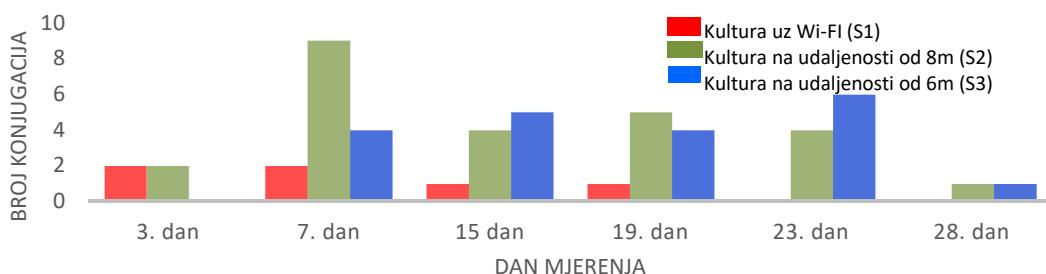
Na slici 11 vidljivo je kako nakon sedmog dana istraživanja broj konjugacija kod papučica smještenih uz Wi-Fi usmjerivač opada, dok 23. i 28. dana istraživanja konjugacija nije bila uočljiva. Tijekom cijelog vremena istraživanja broj konjugacija u preostale dvije skupine papučica bio je podjednak.



Slika 9. Hranidbeni mjehurići kod: (A) papučica držanih na 7 cm udaljenosi od Wi-Fi usmjerivača (S1 skupina); (B) papučica držanih na 8 m udaljenosti od Wi-Fi usmjerivača (S2 skupina) i (C) papučica držanih na 6m udaljenosti od Wi-Fi usmjerivača (S3 skupina).



Slika 10. Vrlo velika i deformirana papučica iz skupine papučica držanih na 7 cm udaljenosti od Wi-Fi usmjerivača



Slika 11. Broj konjugacija papučica tijekom izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača
Rezultati poprečnih dioba papučica tijekom mjesec dana izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača prikazani su u tablici 3.

Tablica 3. Broj poprečnih dioba u papučica tijekom izlaganja elektromagnetskom zračenju Wi-Fi usmjerivača

UZORCI KULTURE PAPUČICA	DANI PROMATRANJA					
	3. dan	7. dan	15. dan	19. dan	23. dan	28. dan
S1 (7 cm od Wi-Fi usmjerivača)	0	0	1	0	0	0
S2 (8 m od Wi-Fi usmjerivača)	1	2	0	1	0	0
S3 (6 m Wi-Fi usmjerivača)	0	0	1	0	1	1

U tablici 3 vidljiv je izostanak poprečnih dioba kod papučica koje su bile držane neposredno uz Wi-Fi usmjerivač.



RASPRAVA

Rezultati našeg istraživanja pokazali su da držanje kulture papučica u neposrednoj blizini (7 cm) od Wi-Fi usmjerivača smanjuje njihov broj i pokretljivost te uzrokuje značajne promjene oblika. Dobiveni rezultati potvrdili su našu pretpostavku da zračenje Wi-Fi usmjerivača može uzrokovati promjene kod papučica. Nasuprot tome, kod skupina papučica koje su držane na 6 m i 8 m udaljenosti od Wi-Fi usmjerivača, a pri međusobnoj usporedbi nije zabilježena razlika vrijednosti svih promatranih pokazatelja. Naši rezultati pokretljivosti i oblika papučica djelomično su u skladu s rezultatima Cammaerts i sur. (2011). Navedeni su autori također utvrdili sporije i vijugavije kretanje papučica nakon dvominutnog izlaganja pri dolaznom pozivu mobitela te bolju vidljivost hranidbenih mjehurića. Osim toga, isti autori utvrdili su da su ozračivane papučice šire u usporedbi s neozračenim papučicama što nije u skladu s našim rezultatima. Naime, naše istraživanje je pokazalo da dugotrajno ozračivanje papučica uzrokuje sužavanje stanica papučica te smanjuje broj i veličinu hranidbenih mjehurića, a time i njihovu vidljivost. Razlog u navedenim razlikama rezultata mogla bi biti upotreba različitih izvora zračenja, različiti intenzitet zračenja kao i vrijeme ozračivanja. No, razlozi za opadanje broja papučica u skupini koja je bila izložena najvećoj jakosti električnog polja mogli bi biti: oštećenje stanične membrane i njene funkcije (Cammaerts i sur., 2011), povećana smrtnost koju su također uočili i Adang i sur. (2009) na štakorima pri izlaganju zračenju mobitel i izostanak konjugacije. Kod papučica je konjugacija vrlo bitna za pomlađivanje i prilagođavanje (Bačić i Erben, 1997). I na kraju, svjesni smo metodoloških nedostataka istraživanja pri mjerenu i određivanju svih pokazatelja. Međutim, s obzirom na to da su naši školski uvjeti i mogućnosti oskudni smatramo da je korištena metodologija primjenjiva i ponovljiva a dobiveni rezultati zanimljivi za daljnja istraživanja.

ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata možemo zaključiti:

- ➊ zračenje Wi-Fi usmjerivača pri visokim jakostima električnog polja smanjuje pokretljivost papučica i smanjuje ukupni broj papučica;
- ➋ dugotrajno ozračivanje papučica uzrokuje sužavanje stanica papučica te smanjuje veličinu hranidbenih mjehurića;
- ➌ visoke vrijednosti jakosti električnog polja uzrokuju potpuni izostanak konjugacije papučica;
- ➍ niske vrijednosti jakosti električnog polja ne uzrokuju vidljive promjene na papučicama.

LITERATURA

- Adang D., Remacle C., Vorst A. V. 2009. Results of a Long-Term Low-Level Microwave Exposure of Rats. IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques 57: 2488-2497.
- Bačić T., Erben R. 1997. Raznolikost živog svijeta. Učebnik biologije za II. razred gimnazije. Školska knjiga, Zagreb.
- Cammaerts M. C., Debeir O., Cammaerts R. 2011. Changes in *Paramecium caudatum* (Protozoa) near a switched-on GSM Funk R. H., Monsees T., Ozkucur N. 2009. Electromagnetic effects—From cell biology to medicine. progress in Histochemistry and Cytochemistry 43: 177-264.
- Macan J., Turk R. 2010. Zdravstveni učinci radiofrekventnog elektromagnetskog zračenja. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju 61: 53-59.
- Trošić I., Pavićić I., Bušljeta I., Mataušić-Pišl M., Milković-Kraus S. 2010. Djelovanje radiofrekvencijskog pojasa neionizirajućeg elektromagnetskog zračenja na razini stanice. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju 61: 45-52.
- Prlić I., Surić Mihić M., Mesić H., Macan J., Varnai V. M., Hajdinjak M. 2017. Neionizirajuće elektromagnetsko zračenje. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju 68: A18-A22.

NASLJEĐUJEMO LI OTISKE PRSTIJU?

Nicol Eršeg, 8. razred
Ines Sataić, 7. razred

Osnovna škola Fran Koncelak Drnje, Drnje
Mentor: Dunja Valenčak

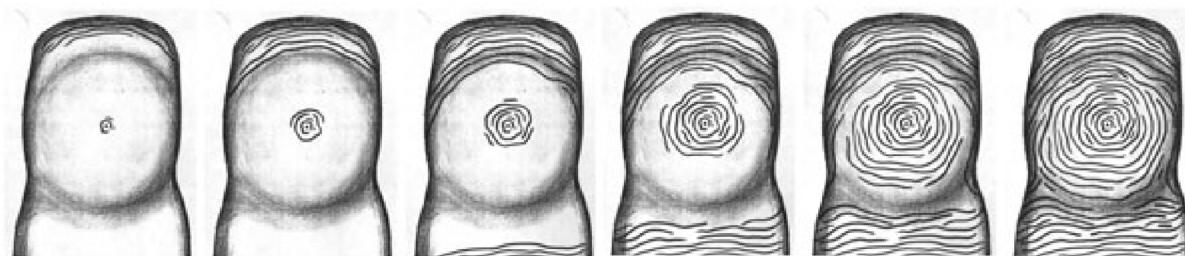
SAŽETAK

Fenotip nekog organizma rezultat je genotipa i okolišnih utjecaja, a otisci prstiju jedno su od naših fenotipskih obilježja. Može li se nastanak otiska prstiju smatrati pukom slučajnošću ili su pak otisci prstiju naslijedno svojstvo? Cilj ovog istraživačkog rada bio je odgovoriti na to pitanje. Znanstvena istraživanja pokazuju da su otisci prstiju produkt evolucije naše vrste, stoga je pretpostavka da su otisci prstiju naslijedni te da postoje određene podudarnosti između roditelja i djece. Kako bismo utvrdili jesu li otisci prstiju naslijedni, prikupljeni su otisci prstiju iz 47 obitelji, odnosno od 188 osoba. Prvi korak analize bio je odrediti kojem tipu otisk pripada (krug, petlja ili luk) te usporediti postoje li podudaranja unutar obitelji u tipu otiska. Za potrebe su analize otisci fotografirani i uvećani kako bi se jasnije vidjele morfološke karakteristike. Nakon što je ustanovljeno da postoji podudaranje u tipu potiska unutra jedan obitelji, analizirane su minucije. Utvrđeno je da je najčešći tip otiska petlja, a najrjeđe zastupljeni tip otiska je luk. Nisu uočene razlike u zastupljenosti tipa otiska s obzirom na spol. Istraživanjem je utvrđeno 79 podudaranja u tipu otiska unutar obitelji, od toga je 41 podudaranje između majki i djece, a 38 podudaranja između očeva i djece. Najveći broj podudaranja otiska zabilježen je za otiske tipa petlje. Drugi korak bio je utvrditi postoje li poklapanja u minucijama. Od 79 analiziranih parova s podudaranjem u tipu otiska kod njih 12 je utvrđeno podudaranje u minucijama, od toga 9 između očeva i djece, a 3 između majki i djece. U istraživanje su bila uključena i dva para jednojajčanih blizanaca. Kod oba para jednojajčanih blizanaca utvrđena su podudaranja u tipu otiska, podudaranja u minucijama te je ustanovljeno da otisci jednojajčanih blizanaca izgledaju kao zrcalne slike. Rezultati ukazuju na to da su otisci prstiju uvjetovani genima i nisu isključivo odgovor na uvjete u maternici prilikom razvoja ploda.

Ključne riječi: papilarne linije; minucije; morfološka analiza; jednojajčani blizanci

UVOD I OBRAZLOŽENJE TEME

Otisci su prstiju uzorci izbočina i udubljenja na jagodicama prstiju koje stručno nazivamo papilarne linije. Osim na prstima ruku, papilarne linije prisutne su na dlanovima, ali i prstima nogu te tabanima. Raspored papilarnih linija na pousmini ovisi o rasporedu žljezda znojnica, živaca, krvnih žila i masnih stanica u usmini kože. Taj je raspored rezultat stvaranja i sazrijevanja kože tijekom prenatalnog razvoja (Raven i Johnson, 1992). Već u četrnaestom tjednu trudnoće na dlanovima fetusa vidljive su u potpunosti oblikovane papilarne linije (slika 1) (Okajima, 1982), koje se ne mijenjaju tijekom cijelog života, osim u slučaju traume.



Slika 1. Razvoj papilarnih linija na prstu fetusa (izvor: Wertheim i Maceo, 2002)

To su karakteristike koje ih čine podobnjima za analizu i identifikaciju osoba putem otiska prstiju. Povijest korištenja otiska prstiju kao sredstva identifikacije je duga, a zna se da su je koristili Asirci,



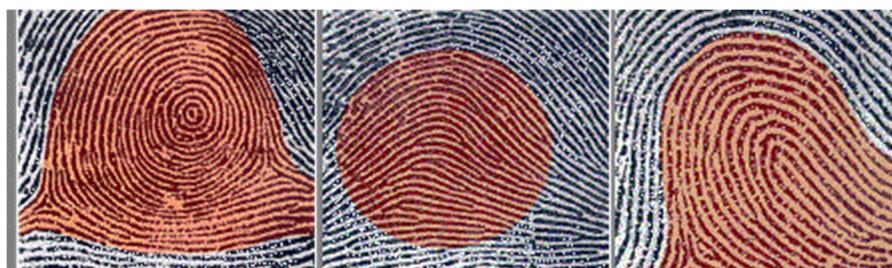
Babilonci, Kinezi i Japanci već prije nove ere (Graevenitz, 2003). Najstariji pronađeni prikazi otiska prstiju stariji su od 6000 godina, a pronađeni su u sjeverozapadnoj Kini. Ne može se sa sigurnošću tvrditi jesu li služili za potrebe identifikacije ili kao ukras (Xiang-Xin i Chun-Ge, 1988). Najstariji dokument koji opisuje korištenje otiska prstiju za rješavanje zločina datira iz vremena dinastije Qin (Xiang-Xin i Chun-Ge, 1988).

Daktiloskopija je znanost koja proučava otiske prstiju. U razvoju znanosti veliku je ulogu imao Hrvat Ivan Vučetić čije ime nosi Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja „Ivan Vučetić“. Danas je daktiloskopija jedna od najsigurnijih, ali i najviše korištenih znanstvenih metoda za utvrđivanje identiteta osoba.

U samim počecima daktiloskopije, za potrebe utvrđivanja identiteta osoba, analiziralo se svih deset prstiju. Zbog pojednostavljanja samog procesa identifikacije, ali i zbog nedostataka uzorka za usporedbu, 1929. godine Battley i Cherrill razvili su metodu kojom je analiza jednog prsta dovoljna za utvrđivanje identiteta. Metoda se zasniva na klasificiranju otiska u jedan od tri osnovna oblika te analizi anatomske karakteristike papilarnih linija.

Razlikujemo tri osnovna oblika otiska (slika 2):

- oblik kruga odnosno vrtloga
- oblik luka
- oblik petlje.



Slika 2. Tri osnovna oblika otiska prstiju redom s lijeva na desno: vrtlog, luk, petlja (izvor: fbi.gov)

Za otisk oblika kruga odnosno vrtloga karakteristične su papilarne linije koje u središtu obavijaju jedna drugu. Otisk oblika luka karakteriziraju papilarne linije koje su u središtu otiska savijene prema gore u obliku luka. Kod otiska oblika petlje papilarne linije kreću s jedne strane prsta, u središtu prsta se savijaju i vraćaju u istom smjeru. Ako linije polaze iz smjera palca, tada govorimo o radikalnoj petlji, a ako polaze iz smjera malog prsta o ulnarnoj petlji (Bača i sur., 2006).

Prilikom analize otiska prstiju početni korak je odrediti kojem tipu, odnosno obliku, otiska pripada onaj kojeg analiziramo. Nakon toga potrebno je analizirati anatomske karakteristike papilarnih linija koje se jednim imenom nazivaju minucije. Minucije su specifičnosti u izgledu papilarnih linija kao što su prekidi papilarnih linija i/ili posebno oblikovani oblici papilarnih linija primjerice – otok, omča, most ili slično (slika 3). Prilikom identifikacije osoba na osnovu otiska prstiju, traži se podudaranje u 12 minucija.



Ove školske godine, na biološkoj grupi, proučavan je utjecaj biologije na razne druge znanosti i sfere suvremenog života. Kao dio ovogodišnjeg programa grupe, održano je stručno predavanje kriminalista kao uvod u svijet kriminalistike i posebno daktiloskopije. Budući da je tema zanimljiva, poslužila je za detaljnije istraživanje o tome kako otisci prstiju nastaju te zašto oni uopće postoje.

Pojava papilarnih linija na dlanovima, prstima i tabanima nije slučajna već je rezultat evolucije (Whipple, 1904). Naime, upravo takva struktura površine dlanova i tabana evolucijski je napredak koji povećava trenje i samim time olakšava kretanje i primanje predmeta. S obzirom na to da su papilarne linije prisutne kod svih ljudi, ali i nekih drugih vrsta životinja, možemo zaključiti da je njihova pojava genetski uvjetovana. Poznato nam je da gene nasljeđujemo od roditelja, pa smo se, vođeni tom činjenicom, zapitali u kojoj se mjeri podudaraju otisci između roditelja i djece.

Cilj je istraživanja ispitati kolike su podudarnosti između roditelja i djece u otiscima prstiju te između jednojajčanih blizanaca te utvrditi:

- ➊ u kojem su postotku prisutne podudarnosti unutar obitelji u obliku otiska i naknadno u broju minucija
- ➋ postoji li veća tendencija u poklapanju u tipu otiska s majkama ili očevima
- ➌ jesu li prisutna poklapanja među jednojajčanim blizancima.

Naša je pretpostavka da određene podudarnosti zasigurno postoje.

METODE RADA

Istraživanjem su obuhvaćeni učenici 7. i 8. razreda Osnovne škole Fran Koncelak Drnje. Istraživanje je provedeno na uzorku od 47 obitelji učenika odnosno na 188 osoba kojima su uzeti otisci prstiju, 94 muškog spola te 94 ženskog spola. Analizirani su otisci 43 majki i 40 očeva te 105 djece. Od ukupnog broja učenika 52 su dječaka i 53 djevojčice. Svim sudionicima istraživanja uzet je otisak kažiprsta desne ruke. Svi otisci su morfološki analizirani osim 6 otiska na kojima nije bilo moguće provesti analizu zbog oštećenja na samom prstu.

Jednojajčani su blizanci produkt oplođene jajne stanice koja se potom podijelila, zbog toga jednojajčani blizanci imaju gotovo identičnu DNA. Upravo su zbog velike genetske sličnosti uvršteni u istraživanje. Jedan par jednojajčanih blizanaca je muškog spola, a drugi ženskog spola. Kako bismo mogli isključiti uvjete u maternici kao glavni čimbenik kod stvaranja otiska prstiju, u istraživanje je uvršten i jedan par dvojajčanih blizanaca.

Kako bi se utvrdilo nasljeđujemo li otiske prstiju, svi otisci su analizirani i određen im je tip. U slučaju da je uočeno da se unutar iste obitelji pojavljuje podudaranje u tipu otiska provedena je detaljna analiza – analiza minucija. Obitelji su različitog sastava, neke uključuju samo jednog roditelja, a pojedine samo jedno dijete po obitelji.

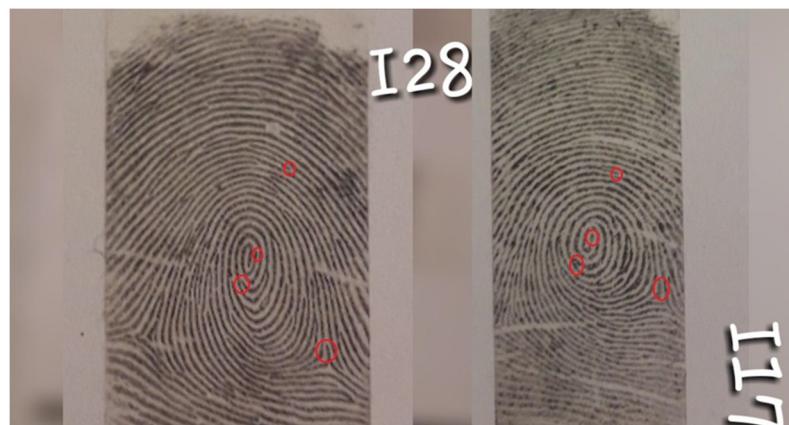
Prije samog početka istraživanja prikupljene su suglasnosti za sudjelovanje svih osoba čije otiske prstiju se analiziralo.

Postupak uzimanja otiska: na masni se papir ucrtava kvadratična površina 2cm^2 te cijeli ispunjava grafitnom olovkom kako bi bio što tamniji. Odreže se komadić selotejpja. Položi se kažiprst u središte iscrtanog



kvadratića te prst lagano zarođiva s jedne i druge bočne strane kako bi primio što više boje. Na kažiprst se nalijepi komad selotejpa. Potom se selotejp ukloni i zaliđepi na prazan bijeli papir. Svaki je otisak fotografiran mobitelom te je fotografija otiska označena šifrom. Unutar iste obitelji otisci su označavani istim slovom te su im dodijeljeni različiti brojevi (na primjer I28) (slika 3). Učiteljica je fotografije otisaka označavala šiframa kako prilikom analize ne bismo mogli namjestiti rezultate. Imena svih sudionika unesena su u Excel tablicu kao i šifre njihovih otisaka. Nakon što je svim otiscima određen tip te određene podudarnosti o minucijama, to je također upisano u Excel tablicu.

Fotografije otisaka uvećane su i isprintane radi lakše analize. Prvi korak analize bio je odrediti o kojem obliku otisaka prsta se radi. Kod poklapanja dvaju otiska, unutar jedne obitelji u tipu, pristupano je daljnjoj analizi - analizi minucija. Na isprintanim fotografijama crvenim markerom označavane su minucije te uspoređivane s otiskom s kojim se podudaraju u tipu (slika 3). Potom je utvrđeno u kojem broju minucija se podudaraju otisci.



Slika 3. Usporedba otisaka koji se poklapaju u tipu, otisci su označeni šiframa te su crvenim markerom obilježene podudarne minucije

Nakon morfološke analize svih otisaka, uneseni su rezultati u Excel tablicu te određeni postoci zastupljenosti pojedinih tipova otisaka, utvrđene učestalosti - postoci u podudaranjima otisaka između majke i djece te očeva i djece, utvrđeno u koliko slučajeva postoji poklapanje u minucijama i u kojem broju. Osim usporedbe i analize otisaka između roditelja i djece, analizirani su otisci jednojajčanih i dvojajčnih blizanaca po tipu otiska i broju minucija.

REZULTATI

Prikupljenih 188 otisaka prvotno je analizirano s obzirom na tip (luk, krug, petlja) te je u tablici 1 prikazana zastupljenost otisaka po tipu i po spolu.

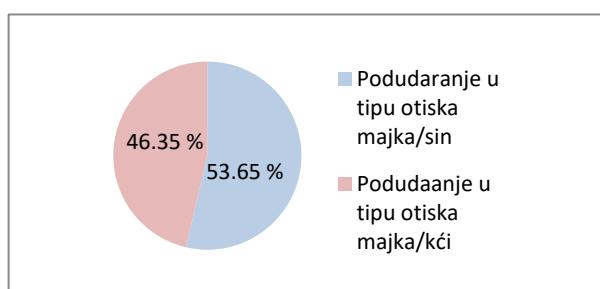
Iz tablice 1 vidljivo je da je najčešći tip otiska kod oba spola – petlja, a najrjeđe zastupljen tip otiska kod oba spola - luk.



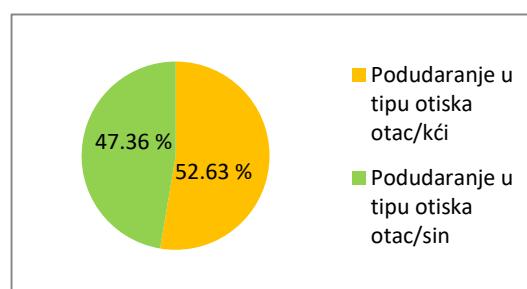
Tablica 1. Zastupljenost tipova otisaka prstiju

TIP OTISKA	UKUPNO ZABILJEŽENO	IZRAŽENO U POSTOCIMA	PRISUTNO KOD ŽENSKOG SPOLA	IZRAŽENO U POSTOCIMA	PRISUTNO KOD MUŠKOG SPOLA	IZRAŽENO U POSTOCIMA
LUK	34	18,68%	14	14,89%	20	21,27%
KRUG	63	34,61%	32	34,04%	31	32,97%
PETLJA	85	46,47%	46	48,93%	39	41,48%

Utvrđeno je kako se 79 otiska podudara u tipu unutar obitelji, točnije između roditelja i djece. Provedeno istraživanje obuhvatilo je 47 obitelji unutar kojih su 43 majke i 40 očeva. Od ukupnog broja obitelji, 41 podudaranje u tipu otiska zabilježeno je između majki i djece, a 38 između očeva i djece (slike 4 i 5).

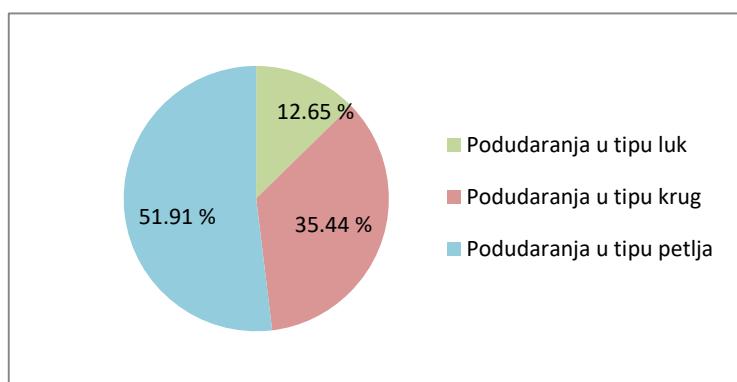


Slika 4. Podudarnosti u tipu otiska između majki i djece



Slika 5. Podudarnosti u tipu otiska očeva i djece

Od 43 majke koje su sudjelovale u istraživanju, kod njih 41 je uočeno podudaranje u tipu otiska s djecom što iznosi 95,34 % podudarnosti. 40 očeva je sudjelovalo u istraživanju te je kod njih 38 uočena podudarnost u tipu otiska s djecom što čini 95 %. Kod majki i sinova utvrđena su 22 slučaja podudaranja u tipu otiska, a 19 između majki i kćeri. U podudarnosti u tipu otiska između očeva i djece, zabilježeno je 20 podudaranja između očeva i kćeri i 18 podudaranja između očeva i sinova. Učestalost podudarnosti po pojedinom tipu otiska vidljiva je na slici 6.



Slika 6. Učestalost podudarnosti u tipu otiska između roditelja i djece u pojedinom tipu otiska

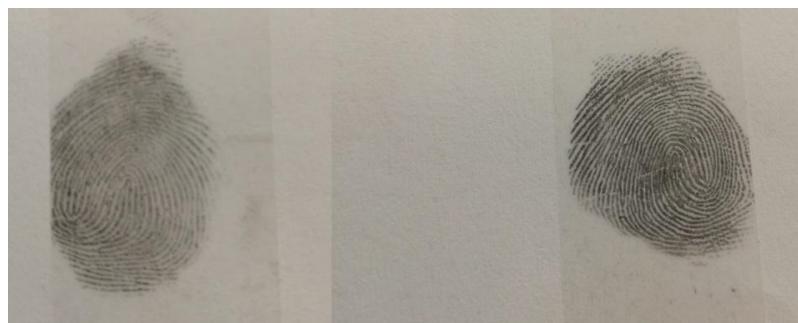
Nakon što je utvrđeno 79 podudaranja u tipu otiska između roditelja i djece, analizirane su minucije na otiscima koji su se podudarali u tipu. Od 79 parova, kod njih 12 su zabilježena podudaranja u minucijama, a 9 od njih je između očeva i djece. Maksimalan broj podudaranja koji je zabilježen između dva otiska (roditelji – djeca) je podudaranje u 4 minucije, zabilježeno između oca i kćeri. Tablica 2 detaljno prikazuje rezultate analize.



Tablica 2. Rezultati analize minucija koji je zabilježen između otiska (roditelji – djeca)

BROJ PODUDARNIH MINUCIJA	PODUDARANJA MINUCIJA KOD MAJKI I SINOVА	PODUDARANJA MINUCIJA KOD MAJKI I KĆERI	PODUDARANJA MINUCIJA KOD OČEVA I SINOVА	PODUDARANJA MINUCIJA KOD OČEVA I KĆER
1			1	3
2	1	2	3	1
3				
4				1

Kod oba para jednojajčanih blizanaca, utvrđena su poklapanja u tipu otisaka. Analizom minucija utvrđen je veliki broj podudaranja kod para 1 (slika 7), gdje je utvrđeno 6 poklapanja u minucijama, a kod para 2 (slika 8), 4 podudaranja. Kod oba para blizanaca uočeno je da njihovi otisci izgledaju kao zrcalne slike. U istraživanju je sudjelovao i jedan par dvojajčanih blizanaca (brat i sestra), kod njih je ustanovljeno da imaju isti tip otisaka, ali bez poklapanja u minucijama te njihovi otisci nisu zrcalni.



Slika 7. Otisci jednojajčanih blizanaca – par broj 1



Slika 8. Otisci jednojajčanih blizanaca – par broj 2

RASPRAVA

Analizom dobivenih rezultata utvrđeno je da je najučestaliji tip otiska petlja, zastupljen kod 46,47% ispitanika što se podudara s rezultatima drugih istraživanja (Holt 1968.), a sljedeći po učestalosti je tip kruga, prisutan kod 34,61% ispitanika. Otisak tipa luk prisutan je kod svega 18,68% analiziranih otisaka prstiju. Rezultati ukazuju na to da bi, zbog učestalije pojave, otisci tipa petlja i krug mogli biti dominantniji u odnosu na tip luka, no to bi svakako trebalo utvrditi dodatnim istraživanjem. Zastupljenost tipa otisaka po spolovima ne odstupa od generalne zastupljenosti otisaka prstiju te je najučestaliji tip otiska i kod muškaraca i žena petlja. Tip petlje je ustanovljen kod 48,93% žena te 41,48% muškaraca. Vodeći se rezultatima našeg istraživanja, možemo zaključiti da tip otiska ne ovisi o



spolu osobe. Svakako bi uzorak analiziranih uzoraka trebao biti veći kako bismo to sa sigurnošću mogli tvrditi.

Prikupljeni otisci prstiju uspoređivani su unutar obitelji, kako bi se utvrdilo postoje li podudarnosti u tipu otiska između roditelja i djece, ne bi li se tako dokazalo naslijđivanje otiska prstiju. 95,34% majki podudara se s djecom u tipu otiska i 95% očeva također. Na temelju tako česte podudarnosti u tipu otiska između roditelja i djece možemo zaključiti da su otisci određeni genima. Kako je gotovo isti postotak poklapanja između oba roditelja i djece, možemo zaključiti da naslijđivanje otiska prstiju nije spolno vezano te da isto tako nije uvjetovano mitohondrijskom DNA. Najveći broj podudaranja u tipu otiska zabilježen je u tipu petlje što ne čudi s obzirom na to da je tip petlje najčešći tip otiska i zastupljen je kod 46,47 % analiziranih otisaka.

Otisci prstiju su od davnina poznati kao sredstvo za identifikaciju pojedinaca, a ono što ih čini specifičnima su uzorci papilarnih linija i minucije. Dugo se vjerovalo kako je nastanak papilarnih linija i minucija stvar slučajnosti tijekom procesa razvoja ploda u maternici. Novija istraživanja upućuju na to da ADAMTS9-AS2 - dugi nekodirajući lanac RNA molekule ima značajnu ulogu u formiranju minucija i papilarnih linija (Ho i sur., 2016). Uspoređivanje minucija između otisaka koji se poklapaju u tipu bio je sljedeći korak analize.

Analizom tipa otiska utvrđeno je 79 parova otisaka između roditelja i djece koji se međusobno podudaraju u tipu otiska. Kod 12 parova utvrđeno je poklapanje u minucijama, a najveći broj podudaranja je zabilježen između oca i kćeri i to podudaranje u 4 minucije. Treba napomenuti kako se kod identifikacije osoba preko otiska prstiju traži podudaranje u 12 minucija. S obzirom na to da je poklapanje između roditelja i djece zabilježeno samo kod 12 od 79 parova, na temelju naših rezultata ne možemo sa sigurnošću tvrditi radi li se o slučajnosti ili ne. Potrebno je provesti dodatna istraživanja na puno većem uzorku kako bismo dobili konkretnije rezultate.

Jednojajčani su blizanci oduvijek bili izuzetno zanimljivi zbog vrlo velike sličnosti u genetskom smislu. Brojna su istraživanja provedena na otiscima prstiju jednojajčanih blizanaca ne bi li se utvrdilo u kojoj mjeri su otisci prstiju nasljedni. U određenim slučajevima, otisci prstiju jednojajčanih blizanaca bili su toliko slični da su uspjeli zavarati iskusne daktilografe što je čak dovelo do toga da jedan brat blizanac bude osuđen za krivično djelo koje je počinio drugi (Jain i sur., 2001).

U istraživanju je sudjelovao jedan par jednojajčanih blizanaca muškog spola te jedan par ženskog spola. U oba slučaja utvrđeno je da oba blizanca imaju isti tip otiska te su utvrđena preklapanja u minucijama. Blizanci muškog spola (par 1) imaju otiske tipa petlja kao i blizanke ženskog spola (par 2). Analizom minucija između otisaka blizanaca kod para 1 utvrđeno je 6 poklapanja u minucijama, a kod para 2, 4 poklapanja, dakako radi se o vrlo malom uzorku te postoji mogućnost da se radi o slučajnosti.

Kako bismo isključili mogućnost da su otisci prstiju jednojajčanih blizanaca slični zbog toga što su bili izloženi sličnim uvjetima tijekom razvoja u maternici, u istraživanje je uključen i jedan par dvojajčanih blizanaca. Kod dvojajčanih blizanaca postoji poklapanje u tipu otiska, ali ne i poklapanje u minucijama. Dvojajčani su blizanci, genetski slični kao i sva ostala djeca istih roditelja i unatoč tome što su bili izloženi sličnim uvjetima u maternici, oni ne pokazuju toliku sličnost između otisaka prstiju kao jednojajčani blizanci. To upućuje na to da su otisci prstiju genetski uvjetovani što bismo voljeli dodatno



istražiti. Određene razlike između otisaka jednojajčanih blizanaca postoje unatoč njihovo velikoj genetskoj sličnosti što se može objasniti jedino uvjetima u maternici za vrijeme njihovog razvoja.

Rezultati koje smo dobili potvrđuju hipotezu o nasljeđivanju otiska prstiju. Ono što je posebno zanimljivo je da otisci jednojajčanih blizanaca izgledaju kao zrcalne slike. Ova nova spoznaja za nas, o sličnosti između otiska prstiju jednojajčanih blizanaca, dobar je temelj za nastavak ovog istraživanja.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja istraživanja kojim smo ispitivali kolike su podudarnosti između roditelja i djece u otiscima prstiju te između jednojajčanih blizanaca utvrdili smo:

- U 47 obitelji, odnosno kod 188 ispitanih osoba, najzastupljeniji tip otiska je tip petlje, a najrjeđi tip luka. Kod oba spola najčešći tip otiska je petlja.
- Zabilježeno je 79 podudaranja u tipu otiska između roditelja i djece. Kod oba roditelja utvrđena je gotovo jednaka učestalost u podudaranju u tipu otiska s djecom, kod 95,34% majki te 95% očeva.
- Kako je gotovo jednaka učestalost u poklapanju otiska između oba roditelja i djece možemo zaključiti na nasljeđivanje otiska nije spolno vezano te da nije vezano uz mitohondrijsku DNA.
- Veći broj podudaranja uočen je između roditelja i djece nego kod majki i djece. Kako bismo dali konkretan odgovor radi li se o slučajnosti ili postoji neki razlog zato, potrebno je provesti dodatna istraživanja na puno većem uzorku.
- Jednojajčani blizanci poklapaju se u tipu otiska te su njihovi otisci kao zrcalne slike.
- Na temelju rezultata koje smo dobili možemo zaključiti da su otisci određeni genima.

LITERATURA

- Baća M., Schatten M., Kišasondi T. 2006. Prstom otključaj vrata. Zaštita 2.
- Cherrill F.R. 1954. Practical Treatise on Finger Print Identification for the Use of Students and Experts and a Guide for Investigators when Dealing with Imprints Left at the Scenes of Crime; Her Majesty's Stationery Office. London.
- Ho J.W. et al. 2016. Common genetic variants influence whorls in fingerprint patterns. Journal of Investigative Dermatology 136: 859-862.
- Holt S. 1968. The genetics of dermal ridges. Springfield, IL.
- Graevenitz G. 2003. Introduction to Fingerprint technology. A&S International 53: 84-86.
- Jain A.K., Prabhakar S., Pankanti S. 2001. On the similarity of identical twins fingerprints. Pattern Recognition 2002: 2653-2663.
- Okajima M. 1982. A Methodological Approach to the Development of Epidermal Ridges Viewed on the Dermal Surface of Fetuses. Progress in Dermatoglyphic Research 84: 175-188.
- Raven, P., Johnson, G. 1992. Biology, 3rd ed.; Mosby Year Book. St. Louis, MO.
- U.S. Department of Justice, Office of Justice Programs, National Institute of Justice. 2004. The fingerprint sourcebook. Rockville, Maryland, United States of America.
- Wals S. et al. 2016. Hot on the Trail of Genes that Shape Our Fingerprints. Journal of Investigative Dermatology 136: 740-742.
- Wertheim K., Maceo A. 2002. The Critical Stage of Friction Ridge Pattern Formation. Journal of Forensic Identification 52 (1): 35-85.
- Whipple I. 1904. The Ventral Surface of the Mammalian Chiridium, With Special Reference to the Conditions Found in Man. Zeitschrift für Morphologie und Anthropologie 7: 261-368.
- Xiang-Xin Z., Chun-Ge L. 1988. The Historical Application of Hand Prints in Chinese Litigation. Journal of Forensic Identification 38 (6): 277-284.



OD JAJA DO KOKOŠI

Karlo Bertetić, 8. razred
Ivor Vretenar, 8. razred

OŠ Vladimira Nazora Pazin, Pazin
Mentor: Maja Curić

SAŽETAK

U ovom istraživanju praćen je i uspoređen embrionalni razvoj križanaca serama kokoši i križanaca domaće kokoši nepoznatih pasmina (dalje u tekstu domaća kokoš) kao i njihov daljnji razvoj. Korišteni su križanci serama kokoši, jer nismo bili u mogućnosti nabaviti čistokrvne jedinke. Serama kokoši su najmanje i najlakše kokoši na svijetu atraktivnog izgleda i karakterističnog držanja nastale križanjem različitih pasmina u malezijskoj pokrajini Kelantan u razdoblju od 1971. do 1990. Embrionalni razvoj kokoši odvija se van tijela i unutar jaja koje grijе majka, dok se za potrebe uzgoja koristi posebni uređaj – inkubator. Po 10 oplođenih jaja križanaca domaće i serama kokoši stavljeno je u inkubator, a istraživanje je ponovljeno 3 puta. Cilj istraživanja bio je pratiti i usporediti embrionalni razvoj domaće kokoši i križanaca serama kokoši kao i njihov daljnji razvoj te razvoj perja. Praćena je prosječna masa križanaca domaće i serama kokoši te je izračunat prirast mase po danima. Bljeskalicom mobitela osvijetljen je zračni džep jaja, pri čemu se svjetlost odbija i embrij postaje vidljiv kroz ljudsku jaju. Praćene su i fotografirane sve vidljive promjene na embrijima: površina krvne mreže (izračunata metodom približnog određivanja tlocrta površine ploštine), gibanje embrija, razvoj udova, probijanje zračnog džepa, probijanje ljudske jaju i vrijeme izlijeganja pilića. Istraživanjem je utvrđeno da se križanci serama kokoši brže razvijaju te se izlježu 1 dan prije domaćih kokoši. Križancima serama kokoši prije raste letno i repno perje, što im daje veću prednost za preživljavanje u divljini. Zanimljivo je da nema veće razlike u prosječnoj masi mužjaka i ženki križanaca serama, dok je razlika u prosječnoj masi mužjaka i ženki domaće kokoši znatno veća.

Ključne riječi: domaće kokoši; serama kokoši; embrionalni razvoj

UVOD

Jedno od najvećih čuda prirode je razvoj pileteta unutar jaja. Temu smo odabrali, jer volimo ptice i interesira nas razvoj kokošjeg embrija. Poslije ovulacije kod ptica, jajna stanica dospijeva u jajovod, gdje može doći do oplodnje. Iz jajeta se razvija zametak ili embrij, ukoliko su jaja oplođena. Tijekom prolaska kroz jajovod, jajna stanica dobiva svoje ovojnice: bjelanjak, unutarnju i vanjsku membranu, tvrdnu ljudsku te naposljetku dolazi do polaganja jaja. Bjelanjak čini dvije trećine mase jaja te sastoji od proteina. Osnovna uloga bjelanjaka je da sačuva vodu u jajetu te također služi i kao izvor hranjivih tvari za razvoj embrija u kasnoj fazi inkubacije (Dragin i sur., 2016). Zametak je razvojni stadij nekog organizma nakon oplodnje. Embrionalni razvoj kokoši odvija se van tijela i unutar jaja koje grijе majka dok se za potrebe uzgoja koristi posebni uređaj – inkubator (naprava u kojoj se osiguravaju potrebna temperatura, izmjena i vlažnost zraka te okretanje jaja).

Kada je jaje sneseno, dolazi do razvoja embrija i obično se zaustavlja dok se ne uspostave odgovarajući uvjeti okoliša (Linhoss i sur., 2016). Osnovni uvjeti koji se moraju ostvariti za normalan razvoj zametka u jajetu su temperatura zraka, relativna vлага zraka, ventilacija i okretanje jaja. Optimalna temperatura unutar jajeta za razvoj kokošjeg zametka je $37,8^{\circ}\text{C}$ u prvih 18 dana inkubacije, zatim $37,5^{\circ}\text{C}$ u zadnja tri dana. Također je potrebno osigurati optimalnu količinu vlage, što izražavamo takozvanom relativnom vlažnošću. U početku, optimalna relativna vlažnost zraka treba biti 50 - 60 %, a 3 - 4 dana prije izlijeganja treba biti 75 - 80 %. Pile se razvije nakon tri tjedna inkubacije (Linhoss i sur., 2016).



U ovom istraživanju praćen je i uspoređen embrionalni razvoj križanaca serama kokoši i križanaca domaće kokoši nepoznatih pasmina (dalje u tekstu domaća kokoš) kao i njihov daljnji razvoj. Korišteni su križanci serama kokoši jer nismo bili u mogućnosti nabaviti čistokrvne jedinke.

Kokoš (*Gallus*), pripada rodu ptica iz porodice *Phasianidae*. Potječe iz Azije, gdje žive 4 vrste divlje kokoši. Domaća kokoš pripitomljena je iz divljeg oblika u Indiji oko 3000. godine prije Krista. U Hrvatsku najprije dolazi u južne krajeve preko Grčke, a za vrijeme rimske vlasti se širi i u ostale krajeve zemlje. Uzgojen je velik broj pasmina koje se razlikuju uzrastom, građom tijela, bojom perja i brojem snesenih jaja (Ravlić i sur., 2012).

Mužjaci domaće kokoši su teži te su im noge jače i šire. Mužjacima su primarna pera dulja, a raspon krila širi, imaju veće krireste i podignut rep. Ženkama se perje formira ranije i aktivnije nego mužjacima, a na krilima često imaju perje različite duljine (Zoo-club-org., 2018). Serama kokoš je najmanja i najlakša kokoš na svijetu. Premda neki autori smatraju da podrijetlo ove patuljaste pasmine seže na početak 17. stoljeća, više njih smatra da je ova pasmina nastala križanjem lokalnih patuljastih pasmina u periodu od 1971. do 1990. u malezijskoj pokrajini Kelantan. U SAD su stigle 2001. godine, na britanski otok 2004. godine, a u Hrvatsku tek 2014. godine (Petanjek, 2017). Ovu pasminu odlikuje karakteristično držanje i izuzetno atraktivna izgled, zbog čega su trenutno vrlo popularni kućni ljubimci u Maleziji. Važnost se ne pridaje obojenosti perja, pojavljuju se u raznim bojama te postoji oko 2500 dokumentiranih boja. Naglasak se stavlja na veličinu, temperament, otpornost i plodnost. Najcjenjenije su manje jedinke serama kokoši (pjetlići težine od 225 do 350 g, a kokice od 200 do 325 g). Kad se gleda s bočne strane, tijelo serama kokoši podsjeća na slovo S, a visina tijela iznosi 15 do 25 cm. Glava im mora biti kratka, široka i nagnuta prema natrag, a poželjno je da kljun bude jak i blago savijen. Listasta kriesta treba biti mala do srednje velika, a crveni podbradnjaci i podušnjaci mali. Prsa su dobro razvijena i okrugla, a sežu skoro do kljuna. Velika i široka krila im stoje okomito uz tijelo prema dolje, ali ne dodiruju tlo. Pjetlić drži rep okomito pod kutom od 90 stupnjeva, tako da skoro dodiruje stražnji dio glave (Petanjek, 2017). Serama kokoši su mlada pasmina, koja još nije dovoljno istražena pa nismo bili u mogućnosti usporediti naše rezultate s rezultatima drugih istraživanja.

Cilj ovog istraživanja bio je pratiti i usporediti razvoj i promjene na embriju i piletu križanaca domaće kokoši i križanaca serama kokoši. Naša prepostavka je da će se križanci serama kokoši brže razviti nego domaće kokoši (zbog manjeg tijela) te da je na njima lakše promatrati promjene na embriju, zbog svjetlijih ljuške jajeta.

METODE RADA

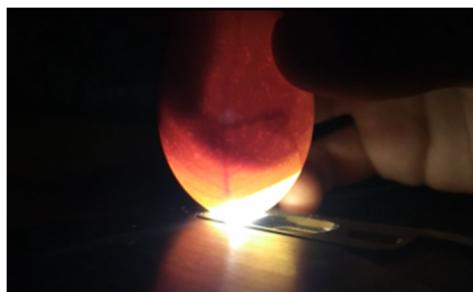
Istraživanje je započeto u rujnu 2018. godine, a trajalo je do početka ožujka 2019. Oplođena jaja domaće kokoši i križanaca serama kokoši stavljena su u inkubator Clea 5 (slika 1) (po 10 oplođenih jaja domaće kokoši i križanaca serama kokoši). Kako bi osigurali da jaja budu što je moguće genetički sličnija, sva jaja domaće kokoši uzeta su iz iste populacije koju čini 10 kokoši i 1 pijetao, a jaja križanaca serama iz populacije od 2 kokoši te 1 pijetla (obje populacije su seoske populacije, ali bez međusobnog doticaja). Istraživanje je ponovljeno 3 puta.



Slika 1. Inkubator s jajima

Inkubator (slika 1) je smješten u stanu jednog od učenika koji provodi ovo istraživanje. Jaja su se u inkubatoru razvijala na temperaturi od $37,8^{\circ}\text{C}$ i prosječnoj vlažnosti od 53% i okretana su 3 puta dnevno. Temperatura je mjerena digitalnim termometrom, a termostat ju je održavao stalnom. Vlaga je mjerena higrometrom te su jaja prskana raspršenom vodom dok nije postignuta potrebna vlažnost zraka. Pred izlijeganje pilića bilo je potrebno povećati vlažnost na 78%, jer se tada apsorbira bjelanjak koji sprječava dehidraciju. Jaja su lagano okretana 3 puta dnevno, jer to i u prirodi rade kokoši (kvočke) koje miješaju i okreću jaja, da bi ih ravnomjerno zagrijale i osigurale prozračnost.

Bljeskalicom mobitela osvijetljen je zračni džep jajeta, pri čemu se svjetlost odbila i embrij je postao vidljiv kroz ljsku jaja (slika 2).



Slika 2. Embrij osvijetljen bljeskalicom mobitela

Praćene su i fotografirane sve vidljive promjene na embrijima: površina krvne mreže (izračunata metodom približnog određivanje tlocrta površine ploštine), gibanje embrija, razvoj udova, probijanje zračnog džepa, probijanje ljske jaja i vrijeme izlijeganja pilića. Rezultati su uspoređeni s istraživanjem koje su proveli i opisali Linhoss i sur. (2016) na embriju domaće kokoši (tablica 1). Linhoss i sur. (2016) detaljno opisuju razvoj kokošjeg embrija, a razvoj embrija su promatrali na način da je odstranjena vanjska ljska jajeta. U našem istraživanju razvoj kokošjeg embrija unutar jajeta je promatrano kroz ljsku jajeta, jer nismo htjeli ozlijediti embrije te stoga nismo mogli uočiti sve promjene koje opisuju Linhoss i sur. (2016). Mi smo se usredotočili na veće i lakše vidljive promjene (površina krvne mreže, gibanje embrija, razvoj udova, probijanje zračnog džepa, probijanje ljske jaja i vrijeme izlijeganja pilića).



Tablica 1. Razvoj kokošjeg embrija - prikaz vidljivih promjena (Linhoss i sur., 2016)

Promatranje	Razvoj kokošjeg embrija – prikaz vidljivih promjena
1. dan (16 sati)	prvi znak sličnosti s pilićima
1. dan (18 sati)	počinje razvoj probavila
1. dan (20 sati)	počinje razvoj kralježnice
1. dan (21 sat)	počinje razvoj živčanog sustava
1. dan (22 sata)	počinje razvoj glave
1. dan (24 sata)	počinje razvoj oka
2. dan (25 sati)	počinje razvoj srca
2. dan (35 sati)	počinje razvoj uha
2. dan (42 sata)	otkucaji srca
3. dan (60 sati)	počinje razvoj nosnica
3. dan (62 sata)	počinje razvoj nogu
3. dan (64 sata)	počinje razvoj krila
4. dan	počinje razvoj jezika
5. dan	formiranje reproduktivnih organa i diferencijacija spola
6. dan	početak formiranja kljuna
8. dan	počinje razvoj perja
10. dan	razvoj kljuna
13. dan	razvoj ljušaka i kandži na nogama
14. dan	embrij se premješta u položaj pogodan za razbijanje ljuške
16. dan	kandže i kljun postaju čvrsti
17. dan	kljun se okreće prema zračnom džepu
19. dan	žumanjčana vrećica počinje ulaziti u tjelesnu šupljinu
20. dan	zametak zauzima sav prostor unutar jajeta, osim zračnog džepa
21. dan	izlijeganje pilića

Svaki dan mjerena je srednja masa jaja na način da su izvagana sva jaja domaće kokoši odjednom te je dobiveni iznos podijelili s brojem jaja. Isto je ponovljeno i s jajima križanaca serama kokoši.

$$\text{Prosječna masa jaja} = \frac{\text{ukupna masa svih jaja (10 jaja)}}{\text{broj jaja (10)}}$$

Prosječni gubitak mase izračunat je pomoću slijedeće formule:

$$\text{Prosječni gubitak mase} = \left(1 - \frac{\text{prosječna masa jaja posljednji dan}}{\text{prosječna masa jaja prvi dan}} \right) \cdot 100 \%$$

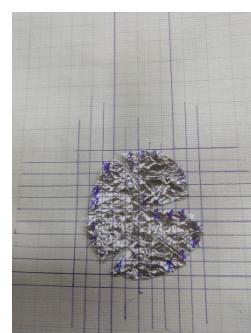
Postotak površine prekrivene krvožilnim sustavom izračunat je metodom približnog određivanja tlocrta površine ploštine.

Jaje je osvijetljeno bljeskalicom mobitela te su tamni dijelovi obavijeni aluminijskom folijom (slika 3). Dobiveni tlocrt postavljen je na milimetarski papir. Svaki cijeli kvadrat i preko 50% pokrivenosti broji se kao cijela površina (25 mm^2), dok se svaki kvadratič ispod 50% prekrivenosti zanemaruju (slika 4).

Nakon izlijeganja, pilići domaće kokoši i pilići križanaca serama kokoši držani su u stanu u zasebnim kutijama dimenzija $50 \times 80 \times 40 \text{ cm}$ i grijani lampama od 40W. Pilićima je cijelo vrijeme bila dostupna hrana (ista količina hrane i pića). Ukupno se razvilo 14 ženki i 13 mužjaka domaće kokoši (3 puta je stavljen po 10 jaja, od toga 2 se nisu razvila, a 1 je uginuo 8. dan nakon izlijeganja). Kod križanaca serama kokoši razvilo se 12 ženki i 14 mužjaka (također je 3 puta je stavljen po 10 jaja, u 4 jaja se pile nije razvilo).



Slika 3. Prekrivanje površine krvnih žila aluminijskom folijom



Slika 4. Računanje površine

Pilići su vagani svaki dan vagom s preciznosti 1 g, nakon čega je izračunata srednja masa te su bili fotografirani.

$$\text{Prosječna masa pilića} = \frac{\text{zbroj masa svih pilića}}{\text{broj pilića}}$$

Na taj način je utvrđeno koji se pilići brže razvijaju i koliko dobivaju na masi.

$$\text{Prirast mase pilića} = \left(\frac{\text{masa pilića taj dan} - \text{masa pilića prethodni dan}}{\text{masa pilića prethodni dan}} \right) \cdot 100 \%$$

Prirast mase izračunat je prema gore navedenoj formuli. Na taj način izračunat je rast u postotcima u odnosu na prethodni dan.

Razvoj pilića praćen je do 15. dana, nakon čega su odvedeni na selo i pušteni u kokošnjce, jer su bili preveliki za držanje u stanu.

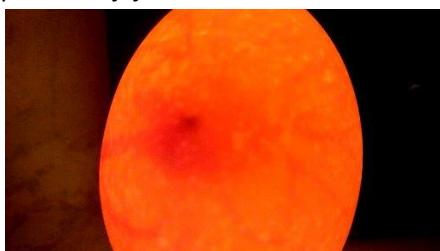
Rezultati su uspoređeni i analizirani, izračunate su srednje vrijednosti za sva mjerjenja, nakon čega su podatci obrađeni u programu Microsoft office Excel te su grafički i tablično prikazani.

REZULTATI

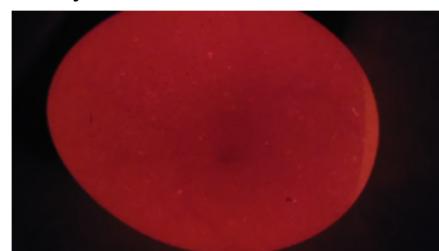
Rezultati prikazuju usporedbu promjene na embriju i piletu te praćenje razvoja križanaca domaće kokoši i križanaca serama kokoši.

Usporedba embrionalnog razvoja domaće kokoši i križanaca serama

Od ukupno 30 oplođenih jaja domaće kokoši razvilo se 14 ženki i 13 mužjaka, a od istog broja oplođenih jaja križanaca serama razvilo se 12 ženki i 14 mužjaka.



Slika 5. Embrij križanca serama kokoši u jajetu 5.dan



Slika 6. Embrij križanca domaće kokoši u jajetu 5. dan



Svetlost bolje prolazi kroz ljudsku jaja križanaca serama kokoši pa su promjene na embrijima u jajetu te pasmine uočljivije (slike 5 i 6).

Praćene su i fotografirane sve vidljive promjene na embrijima: gibanje embrija, razvoj udova, zauzimanje položaja za izlijeganje, prorjeđenje mreže krvnih žila, probijanje zračnog džepa, probijanje ljudske jaja i vrijeme izlijeganja pilića (tablica 2).



Slika 7. Embrij križanaca serama 10. dan



Slika 8. Embrij križanaca serama 12. dan



Slika 9. Probijanje ljudske jajeta

Embriji križanaca serama kokoši brže se razvijaju od embrija domaće kokoši (tablica 2). Slika 7 pokazuje embrij križanaca serama kokoši do 12. dana. U položaj za izlijeganje, ovi križanci ulaze 12. dan (slika 8), ranije probijaju ljudsku jajeta (slika 9) te se izlježu dan ranije u odnosu na domaću kokoš.

Tablica 2. Usporedba vidljivih promjena na embrijima domaće kokoši i križanaca serama kokoši

Promjene	Križanci serama	Domaća kokoš
Vidljive promjene na embriju	2. dan	3. dan
Gibanje	5. dan počinje naglo, a 9. dan se usporava	5. dan počinje lagano, a 10. dan se ubrzava
Razvoj udova	7. dan	9. dan
Položaj za izlijeganje	12. dan	15. dan
Prorjeđivanje mreže krvnih žila zadužene za dobivanje kisika	17. dan	18. dan
Probijanje zračnog džepa	18. dan	20. dan
Probijanje ljudske jaja	18. dan	20. dan
Izlijeganje	19. dan	20. dan

Detaljan opis promjena po danim prikazan je u tablici 3.



Slika 10. Usporedba embrionalnog razvoja domaće kokoši i križanaca serama kokoši

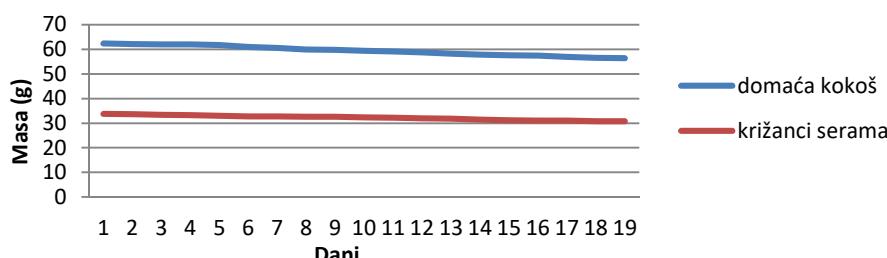
Iz slike 11 vidljivo je da se prosječna masa jaja svaki dan smanjuje kod obje skupine. Prosječni gubitak mase križanaca domaće kokoši iznosio je 9,62 %, a križanaca serama kokoši 8,86 %. Površina krvožilnog sustava križanaca domaće kokoši veća je zbog same veličine jajeta (slika 12), ali kod obje



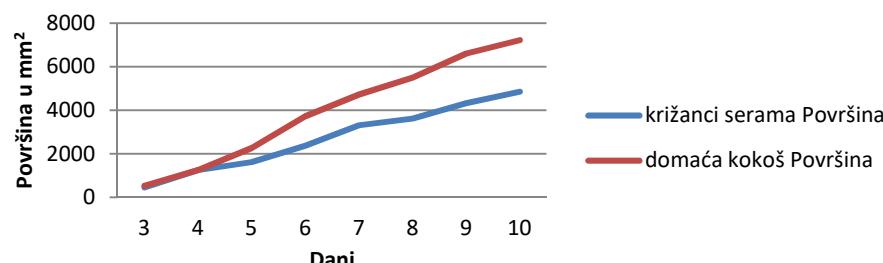
skupine proporcionalno raste s manjim odstupanjima. Krvožilni sustav prekriva čitavu površinu jajeta 10. dan kod obje skupine (slika 13).

Tablica 3. Detaljan opis promjena na embrijima u jajetu kod domaće kokoši i križanaca serama po danima

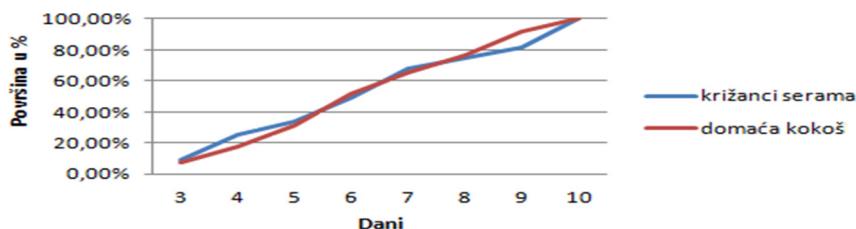
Dan	Križanci serama kokoši	Križanci domaće kokoši
1.	Nema vidljivih promjena.	Nema vidljivih promjena.
2. – 4.	Embrij je postao vidljiv te se formiraju žile zadužene za dobivanje kisika.	Embrij je postao vidljiv te se formiraju žile zadužene za dobivanje kisika.
5.	Naglo gibanje embrija.	Lagano gibanje embrija.
6.	Gibanje embrija je intenzivnije te im se veličina gotovo udvostručuje. Mreža krvnih žila se i dalje širi te zauzima polovinu površine jajeta.	Gibanje embrija je intenzivnije te im se veličina gotovo udvostručuje. Mreža krvnih žila se i dalje širi te zauzima polovinu površine jajeta.
7.	Pokreti postaju brži i naglijiji, a embriji postaju tamniji zbog razvoja kože i organa. Razvoj udova.	Pokreti postaju brži i naglijiji, a embriji postaju tamniji zbog razvoja kože i organa.
8.	Tijelo postaje veće od glave, embriji se samo ljušljaju te počinju koristiti udove.	Tijelo postaje veće od glave.
9.	Udovi postaju veći i snažniji, a razvoj glave i gibanje se usporava.	Udovi postaju veći i snažniji.
10.	Mreža krvnih žila sada prekriva svu površinu ljuške kod križanaca i gibanje im se usporava.	Mreža krvnih žila sada prekriva svu površinu ljuške i gibanje se ubrzava.
11.	Bez većih promjena.	Brže rastu te im se pokreti usporavaju.
12.	Embrij počinje zauzimati položaj za izlijeganje.	Razvija se vrat.
13.	Nema vidljivih promjena.	Glava je veličine kao kod tek izlježenog pilića.
14.	Nema vidljivih promjena.	Nema vidljivih promjena.
15.	Nema vidljivih promjena.	Embriji se postavljaju u završni položaj.
16.	Uočava se mali rast.	Uočava se mali rast.
17.	Žile se počinju prorjeđivati, te embriji pokušavaju probiti membranu zračnog džepa.	Nema vidljivih promjena
18.	Križanci serama probijaju zračni džep i ljušku jaja.	Embriji pokušavaju probiti zračni džep.
19.	Križanci serama se izlježu.	Nema vidljivih promjena.
20.		Mladi probijaju membranu zračnog džepa te se izlježu u slijedećih 13 -15 sati.



Slika 11. Usporedba prosječne mase jaja križanaca serama kokoši i križanaca domaće kokoši



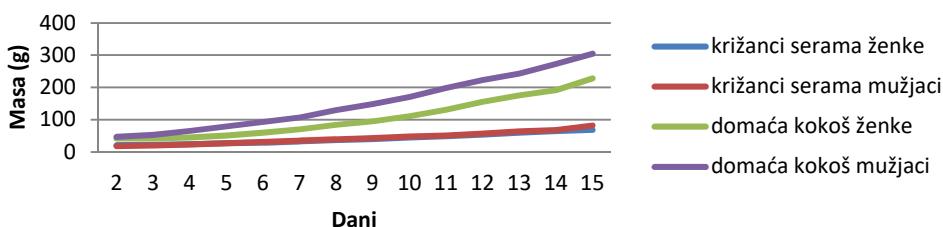
Slika 12. Usporedba površine krvožilnog sustava križanaca serama kokoši i križanaca domaće kokoši



Slika 13. Usporedba postotka prekrivenosti površine krvožilnog sustava između križanaca serama kokoši i križanaca domaće kokoši po danima

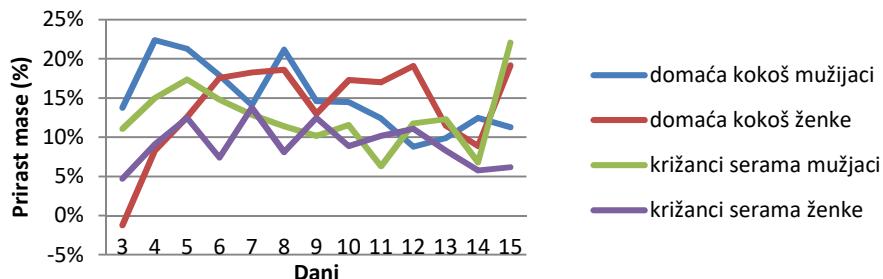
Usporedba razvoja križanaca serama i križanaca domaće kokoši nakon izlijeganja

Pilićima domaće kokoši i križancima serama kokoši izmjerena je prosječna masa i prirast mase.



Slika 14. Usporedba prosječne mase mužjaka i ženki križanaca domaće kokoši i križanaca serama kokoši po danima

Pilići prvi dan nisu vađeni iz inkubatora, da se ne pothlade, stoga su vagani tek nakon drugog dana. Mužjaci domaće kokoši od 3. dana imaju veću masu u odnosu na ženke, a ta razlika s vremenom postaje sve veća (slika 14). Kod križanaca serama kokoši nema velikih razlika u masi između mužjaka i ženki.



Slika 15. Usporedba prirasta mase između mužjaka i ženki križanaca domaće kokoši i križanaca serama kokoši

Mužjaci obje skupine u početku imaju veći prirast mase u odnosu na ženke (slika 15). Ženke križanaca domaće kokoši malo gube na masi 3. dan.

Usporedba vidljivih promjena u razvoju križanaca serama i križanaca domaće kokoši nakon izlijeganja

Uspoređen je razvoj perja na repu, krilima i po tijelu kod domaće kokoši i križanaca serama kokoši. Opaženo je da križancima serama kokoši perje brže raste (tablica 4).

Tablica 4. Opis promjena na pilićima domaće kokoši i križanaca serama kokoši

Vidljive promjene na piletu		
Promjene	Križanci serama	Domaća kokoš
Rast perja na repu	Počinje 5. dana	Počinje 6. dana
Razvoj perja na prsimu	Počinje 10. dan	Počinje 11. dan
Sekundarna perja	Kraća od primarnih	Duža od primarnih



Slika 16. Križanci serama kokoši 2. dan



Slika 17. Križanci domaće kokoši 2. dan

Nakon izlijeganja, pilići su se sušili u inkubatoru 24 sata (tablica 4), nakon čega su stavljeni na papirnatu podlogu gdje im je bila dostupna hrana i voda. Kod križanaca serama kokoši brže se razvija perje na krilima (slika 16) u odnosu na piliće križanca domaće kokoši (slika 17).



Slika 18. Križanci serama kokoši 5. dan



Slika 19. Križanci domaće kokoši 5. dan

Križanci serama kokoši su manji, brže im se razvije perje na krilima (slika 18), a vidljivi su začetci perja na repu. Domaće kokoši (slika 19) su u uspravnijem položaju tijela u odnosu na križance serama.



Slika 20. Križanci serama kokoši 10. dan



Slika 21. Križanci domaće kokoši 10. dan

Kod križanaca serama kokoši počinje se formirati perje na prvom zglobu krila te dolazi do blagog zatamnjivanja perja (slika 20). Na slici 21 vidljiv je početak formiranja perja na prsima kod domaće kokoši.



Slika 22. Križanci serama kokoši 15. dan



Slika 23. Križanci domaće kokoši 15. dan



Križancima serama kokoši raste perje na prsima (slika 22), a križancima domaće kokoši počinje se razvijati perje ispod krila (slika 23).

RASPRAVA

Cilj istraživanja bio je pratiti i usporediti razvoj i promjene na embriju i piletu križanaca domaće kokoši i križanca serama kokoši. Naša pretpostavka je bila da će kod križanaca serama kokoši biti lakše promatrati površinu krvne mreže, gibanje embrija, razvoj udova, probijanje zračnog džepa i ljske jajeta, što se pokazalo ispravnim. Ljska jajeta križanaca serama kokoši je svjetlijia i kompaktnija od ljske jaja domaće kokoši, gdje su često uočene nepravilnosti u građi poput hrapavosti ili pojačanog zadebljanja ljske na pojedinim dijelovima. Zato se svjetlost manje lomi prolaskom kroz ljsku jajetu križanaca serama kokoši pa je embrij bolje vidljiv.

Masa jaja se s vremenom kod obje pasmine smanjivala, jer je embrij koristio zalihe hranjivih tvari za svoj razvoj. Gubitak mase podjednak je u obje pasmine, s tim da je kod križanaca serama kokoši malo veći, jer se malo brže razvijaju. Razvoj udova, probijanje zračnog džepa i ljske jajeta kod križanaca serama kokoši odvija se dva dana ranije nego kod domaće kokoši. U prilog tome ide i činjenica da se izlježu dan ranije.

Naša pretpostavka je bila da će se križanci serama kokoši brže razviti od križanaca domaće kokoši zbog manje veličine tijela, što se pokazalo ispravnim. Križanci serama kokoši brže se razvijaju i izlježu se 1 dan prije križanaca domaće kokoši. Pretpostavljamo da je to zbog manjeg tijela, ali i zbog toga što je serama kokoš relativno mlada pasmina kokoši (Petanjek, 2017), koja u sebi još ima odlike divljih kokoši. U prilog tome ide i činjenica da se križancima serama kokoši brže razvijalo perje na krilima i repu, nego križancima domaće kokoši, što ih čini prilagođenijim uvjetima u divljini, gdje im brži razvoj letnog perja može dati veće šanse za opstanak.

Linhoss i sur. (2016) detaljno opisuju razvoj kokošnjeg embrija na način da razvoj embrija promatraju odstranjivanjem vanjske ljske jajeta. U našem istraživanju, razvoj kokošnjeg embrija unutar jajeta je promatran kroz ljsku jajetu, jer nismo htjeli ozlijediti embrije te nismo mogli uočiti sve promjene koje opisuju Linhoss i sur. (2016). Međutim, njihovo istraživanje uvelike nam je olakšalo praćenje embrionalnog razvoja kokoši, te razumijevanje vidljivih promjena. U našem istraživanju praćeno je gibanje embrija, razvoj udova, zauzimanje položaja za izlijeganje, prorjeđenje mreže krvnih žila, probijanje zračnog džepa, probijanje ljske jaja i vrijeme izlijeganja pilića.

Kod križanaca serama kokoši nisu opažene velike razlike u masi između mužjaka i ženki. Manje razlike u masi uočljive su tek u odrasloj dobi, što je u skladu s podatcima koje navodi Petanjek (2017). Mužjaci domaće kokoši već od 3. dana imaju veću masu u odnosu na ženke, a ta razlika s vremenom postaje sve veća. Prosječna masa mužjaka u tom periodu u ovom istraživanju je bila za 1,33 puta veća od mase ženki domaće kokoši.

Mužjaci obje skupine u početku imaju veći prirast mase u odnosu na ženke, a ženkama prirast mase naglo raste nakon 14 dana, ali i dalje ostaje znatna razlika u masi mužjaka i ženki domaće kokoši. Zanimljivo je da se ženke domaće kokoši kasnije počinju hrani u odnosu na mužjake, što je vidljivo iz rezultata prirasta mase.



Nažalost, nismo pronašli slična istraživanja sa serama kokošima pa naše rezultate nismo mogli usporediti s rezultatima drugih autora, osim s podatcima iz članka „Serama – najmanja kokoš na svijetu“ kojeg je 2017. objavio Darko Petanjek. Budući da su serama kokoši relativno mlada pasmina kokoši, koja je tek 2001. godine uvezena u SAD, 2004. u Europu a kod nas tek 2014., sigurni smo da će ova pasmina u budućnosti biti bolje istražena. U našem radu korišteni su križanci serama kokoši, jer nismo bili u mogućnosti nabaviti čistokrvne jedinke. Čim nam se ukaže prilika, u planu nam je nabaviti čistokrvne serame i ponoviti istraživanje te usporediti rezultate.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja usporedbe promjene na embriju i piletu te praćenja razvoja križanaca domaće kokoši i križanaca serama kokoši mogu se donijeti slijedeći zaključci:

- ➊ Lakše je pratiti embrionalni razvoj križanaca serama kokoši nego domaće kokoši, jer im je ljudska jaja svjetlijia i pravilnija pa je lom svjetlosti manji.
- ➋ Križanci serama kokoši se brže razvijaju od domaće kokoši.
- ➌ Prosječna masa domaće kokoši znatno je veća od mase križanaca serama kokoši.
- ➍ Prosječna masa mužjaka domaće kokoši znatno je veća u odnosu na ženke.
- ➎ Razlika u masi mužjaka i ženki križanaca serama kokoši nije toliko izražena kao kod domaće kokoši.
- ➏ Kod mužjaka obje pasmine prirast mase u početku je znatno veći u odnosu na ženke.

LITERATURA

- Dragin S., Stančić I., Jotanović S. 2016. Biotehnologija u reprodukciji životinja,
<http://poli.uns.ac.rs/sites/default/files/udzbenici/Biotehnologija-u-reprodukciiji-zivotinja-cela-knjiga%20%281%29.pdf>, pristupljeno 7.01.2019.
- Linhoss Emerson J., Tabler G. T., Wels Benoit J. 2016. Stages in chick embryo development,
<http://extension.msstate.edu/content/stages-chick-embryo-development>, pristupljeno 5.01.2019.
- Petanjek D. 2017. Serama – najmanja kokoš na svijetu, http://www.gospodarski.hr/Publication/2017/6/serama-najmanja-koko-na-svjetetu/8704#.XIk3_PIKiM8, pristupljeno 7.01.2019.
- Ravlić S. 2012. Kokoš, <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=32311>, pristupljeno 7.01.2019.
- Zoo-club-org., Kako razlikovati piletinu od pijetla i kako razlikovati kokoši,
<https://hr.zoo-club.org/470-how-to-distinguish-a-chicken-from-a-rooster-and-how-t.html>, pristupljeno 5.3.2019.



VOLITE LI GREJP?

Karla Jug, 8. razred
Matea Rakić, 8. razred

OŠ Gračani, Zagreb
Mentor: Kristina Gajski

SAŽETAK

Grejp je tropská biljka iz porodice agruma. Plod grejpa je gorko-kiselog okusa. Feniltiokarbamid je molekula koju određeni postotak ljudi smatra gorkom, a ostali je doživljavaju neutralnom. Istraživanjem se željelo odrediti udio ispitanika koji osjećaju gorak okus feniltiokarbamida u ukupnom uzorku od 50 osoba te je li to povezano s okusnim doživljajem konzumacije ploda grejpa. Ukupno je 35 ispitanika koji osjećaju gorak okus feniltiokarbamida i nazivaju se kušači, a 15 ispitanika ne osjeća okus feniltiokarbamida i nazivaju se ne-kušači. Na osnovu ankete o prehrambenim navikama koju je ispunjavao svaki ispitanik i testiranja pomoću vode (kontrolna otopina) i 0,025 % -tne otopine feniltiokarbamida-PTC dobiveni su sljedeći rezultati: udio kušača je 70%, a ne-kušača 30%. Analizom ispitanika po spolu utvrđeno je da su ispitanici muškog spola osjetljiviji na okus PTC. Prehrambene navike kušača i ne-kušača ne razlikuju se u broju obroka. Male razlike ne-kušača i kušača vidljive su u količini tekućine koju uzimaju tijekom dana. Anketom su dobiveni rezultati prema kojima kušači konzumiraju više tekućine. Sklonost konzumiranju kave razlikuje se kod ne-kušača i kušača. Kavi su skloniji kušači, što je u potpunosti suprotno od početne pretpostavke. Sukladno početnim pretpostavkama ne-kušači u većem postotku konzumiraju kiselu, a kušači slatku hranu; grejp, višnju i patlidžan u većem postotku vole jesti ne-kušači. Ne-kušači u većem postotku svakodnevno konzumiraju voće i povrće.

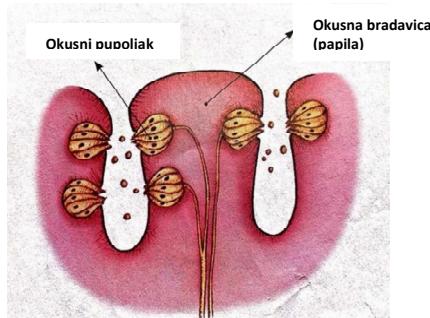
Ključne riječi: osjetilo okusa; feniltiokarbamid; kušači i ne-kušači; prehrambene navike

UVOD

Osjetilo okusa kod čovjekovih predaka bilo je važno za preživljavanje. Loši okusi signaliziraju štetne, neprobavljive tvari, dok dobri okusi signaliziraju korisne, probavljive tvari. Sposobnost okusa gorskog se pojavila tijekom evolucije i pokazala se korisnom u prepoznavanju otrovnih tvari koje često imaju gorki okus te je spriječila njihovo unošenje u tijelo i omogućila preživljavanje jedinkama s tim obilježjem. Većina znanstvenika smatra da postoji pet osnovnih okusnih doživljaja: slatko, slano, kiselo, gorko i umami (Goldstein, 2011). Postoji još jedan, šesti okus - masno, koji je utvrđen nekim istraživanjima (Coren i sur., 2004). Osjet okusa započinje jezikom, na kojem se nalaze okusni receptori – kemoreceptori. Površina jezika (slika 1) sadrži okusne bradavice (papile). Goldstein (2011) navodi postojanje vlaknastih, gljivastih, listastih i okruženih papila. Sve papile, osim vlaknastih, sadrže okusne pupoljke. Jalšovec (2005) navodi postojanje još jedne vrste papila (*papillae conicae*) koje poput vlaknastih ne sadrže okusne pupoljke, a nalaze se na prednje dvije trećine gornje strane jezika. Svaki okusni pupoljak sadrži 50-100 okusnih stanica (slika 2). Kemijski poticaj osjetiliu okusa su tvari topljive u vodi, slini. Podraživanjem okusnih stanica stvara se električni impuls koji se prenosi živcima do dijela mozga odgovornog za osjet okusa (solitarne jezgre u moždanom deblu). Koncentracija otopljene tvari proporcionalna je s jačinom osjeta okusa.



Slika 1. Jezik s papilama



Slika 2. Okusna bradavica (papila) i okusni pupoljci (izvor: Bendelja i sur., 2014)

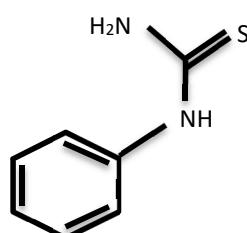
Okus slatkog potječe od organskih molekula sastavljenih od atoma ugljika, kisika i vodika u različitim kombinacijama, u obliku šećera i alkohola. Neke tvari poput aspartata i ciklamata su slatke, ali su drugačije strukture od šećera. Okus gorkog povezan je s osjetom slatkog. Saharin je primjerice u malim količinama sladak, a u velikima gorak. Neke kemijske tvari koje sadrže dušik poput strihnina, kofeina, kinina i nikotina su gorke. Okus slanog potječe od ionskih spojeva koji otopljeni u vodi disociraju na ione. Primjer takvog kemijskog spoja je NaCl, koji disocira na pozitivno nabijeni Na^+ i negativno nabijeni ion Cl^- . Kiseli okus potječe od kiselina koje u vodi disociraju na H^+ ion, koji je odgovoran za osjet kiselog. Umami je okus koji ispitanici opisuju kao mesnati ili slasni. Potječe od aminokiseline L-glutamin, odnosno od mononatrijevog glutamata-MSG. Koristi se kao pojačivač okusa. Osjet masnog potječe od slobodnih masnih kiselina koje se slinom transportiraju posebnim proteinima (Stanley i sur., 2004).

Neke tvari poput saharoze (slatko), kloridne kiseline (kiselo), natrijevog klorida (slano) i kinina (gorko) izazivaju samo jedan od temeljnih okusa, dok druge tvari izazivaju kombinaciju različitih okusa od kojih je jedan prevladavajući. Primjer takvih tvari su kalijev klorid (koji daje okuse slanog i gorkog) i natrijev nitrat (koji daje kombinaciju okusa slanog, kiselog i gorkog).

Postoje tvari oko čijeg okusa se ljudi ne slažu. Primjer takve tvari je feniltiokarbamid ili feniltiourea – PTC (slika 3). Nekim ljudima PTC je gorkog okusa, a drugim ljudima je bez okusa. Ovo je svojstvo PTC-a 1931. godine slučajno otkrio kemičar Arthur Fox. Neopreznim rukovanjem prahom PTC-a u



laboratoriju, dio praha se raspršio po zraku. Njegovom kolegi dr. Nollenu ta tvar je bila jako gorka, a Fox je nije osjećao. Ovo slučajno otkriće znanstvenike je potaknulo na brojna istraživanja. Otkriveno je da je sposobnost osjeta PTC genetski uvjetovana. Dominantni gen (označimo ga s A) je taj koji osobama omogućuje da osjeti PTC. Mogući genotipi su AA, Aa i aa. Dosadašnja istraživanja pokazuju da otprilike 75% ljudi osjeća gorak okus PTC-a, a 25% ne osjeća (Portada, 2014). Ljudi koji mogu osjetiti gorak okus PTC-a nazivaju se kušačima, a oni koji ne mogu ne-kušačima. Kušači imaju veću gustoću okusnih populjaka na jeziku od ne-kušača (Goldstein, 2011).



Slika 3. Strukturna formula feniltiokarbanida-PTC

Istraživanja osjeta okusa PTC-a na ovim geografskim prostorima provodili su Pavlica i sur. (2001) i Šapina (2014). Pavlica i sur. (2001) su istraživali osjećanje gorskog okusa PTC-a kod stanovnika Srijema. Šapina (2014) je istraživao povezanost osjeta PTC-a i prehrambene navike stanovnika Splita i Korčule. Rezultati njegovog istraživanja pokazali su da su ženske osobe osjetljivije na gorak okus PTC-a. Otkrio je negativnu povezanost kod kušača PTC-a u konzumiranju nekih namirnica. Njegovi rezultati pokazuju da kušači manje konzumiraju vino, bevandu, pivo, slane srdele, bijelu ribu i ugljikohidrate od ne-kušača.

Pretraživanjem literature nije uočeno da je netko istraživao povezanost PTC i konzumiranja pića poput kave, te grejpa, višnje i patlidžana te je upravo ta povezanost predmet proučavanja ovog projekta. Grejp kao namirnica općenito je gorskog okusa. Međutim, konzumacijom grejpa uočeno je kako osjećanje gorskog okusa varira od čovjeka do čovjeka. Ovim istraživanjem htjeli smo ispitati ima li osjet gorčine koju osoba osjeća veze s time osjeća li osoba gorčinu PTC-a ili ne.

Specifični ciljevi ovoga projekta su:

- ➊ Istražiti udio osoba koji ne osjete okus PTC (ne-kušača) u ukupnom uzorku.
- ➋ Usporediti prehrambene navike kušača i ne-kušača PTC-a.
- ➌ Analizirati sklonost konzumiranju kofeina, grejpa, višnje i patlidžana kod kušača i ne-kušača.
- ➍ Usporediti sklonosti kiseloj i slatkoj hrani kod kušača i ne-kušača.

Proučavanjem literature postavljene su prepostavke:

- ➊ Prepostavlja se da će udio ne-kušača u ukupnom uzorku biti između 25% i 30%.
- ➋ Prepostavlja se da ne-kušači manje osjećaju okus gorskog i u tom uzorku je više onih koji češće konzumiraju kavu i vole jesti grejp, višnju i patlidžan.
- ➌ Prepostavlja se da su ne-kušači skloniji kiseloj hrani.



METODE RADA

Istraživanje je obuhvatilo teorijski i praktični dio te obradu dobivenih podataka. Plan istraživanja prikazan je u tablici 1.

Tablica 1. Prikaz plana istraživanja rada „Volite li grejp?“

PLAN ISTRAŽIVANJA	VREMENSKO RAZDOBLJE	AKTIVNOSTI
TEORIJSKI DIO	rujan-listopad 2018.	<ul style="list-style-type: none"> - izbor problema i proučavanje literature - definiranje pretpostavki i ciljeva - nabavljanje otopine PTC - sastavljanje i umnožavanje pitanja za anketu o prehrambenim navikama
PRAKTIČNI DIO	studen-i-prosinac 2018.	<ul style="list-style-type: none"> - odabir uzorka za provođenje istraživanja - provođenje istraživanja u školi
OBRADA DOBIVENIH PODATAKA	siječanj-veljača 2019.	<ul style="list-style-type: none"> - statistička analiza dobivenih podataka - uspoređivanje podataka s podacima iz literature - rasprava i izvođenje zaključaka - ocjena postavljenih pretpostavki

Metoda korištena u istraživanju okusa PTC-a je pojednostavljeni Harris-Kalamusov test (Lawless i sur., 1998). Izvorni test sastoji se od serije otopina različitih koncentracija PTC-a i obične vode te se tako razlikuju ne-kušači i kušači. U ovom istraživanju korištene su 0,025 %-tna otopina PTC i obična vodovodna voda. Otopina PTC-a ove koncentracije iznad je praga podražaja za PTC te na taj način nije moglo doći do lažno negativnih rezultata i nepravilnosti u provođenju ispitivanja.

Uzorak

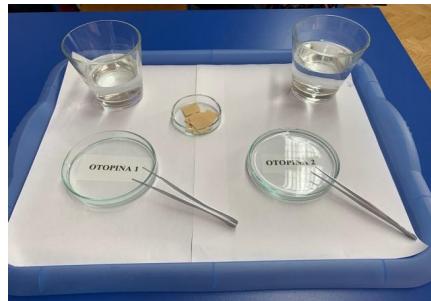
Istraživanje je obuhvatilo ispitanike između 25 i 60 godina zaposlenike škole koji žive u Zagrebu. U istraživanju je sudjelovalo 36 osoba ženskog i 14 osoba muškog spola, dakle ukupno 50 ispitanika. Svi ispitanici očitovali su se o dobrom zdravstvenom stanju prije istraživanja. Testiranje je provedeno tijekom studenog i prosinca 2018. godine, u jutarnjim satima između 7 i 7:30 sati u učionici biologije uz nazočnost mentora. Ispitanici su zamoljeni da dođu natašte, te da prije ispitivanja ne konzumiraju kofein, čajeve, alkohol i duhanske proizvode.

Prije provedenog istraživanja ispitanici su upoznati s time da se istraživanje provodi u svrhu istraživačkog projekta iz biologije. Nisu upoznati s ciljevima i pretpostavkama istraživanja, a istraživanje je provedeno pojedinačno, odnosno u učionici su bili samo ispitanik, ispitivač i mentor. Svaki ispitanik individualno je ispunio anketu o prehrambenim navikama i afinitetu (preferencijama) prema pojedinim namirnicama (prilog 1). Ispitanici su u anketi označavani brojevima i inicijalima.

Ispitanici su zatim upućeni da 100 mL obične, vodovodne vode promućkaju u ustima i ispljunu. Zatim su na jezik stavili komadić filter-papira (1 x 1 cm) prethodno natopljen u otopinu 1 i zatvorili usta. Otopina 1 je obična vodovodna voda, dakle kontrolna otopina. Nakon toga popili su gutljaj obične vode i na jezik stavili komadić filter-papira (1 x 1 cm) prethodno natopljen otopinom 2 i zatvorili usta. Otopina 2 je 0.025 %-tna otopina kristalnog praha PTC-a u destiliranoj vodi čuvana u hladnjaku (slika 4). Ispitivanje je uvijek provođeno redoslijedom voda, a zatim PTC kako bi se izbjegao lažan dojam o okusu vode (otopina 1) kod ispitanika. Ispitivači su na anketnom listiću kod kušača zaokruživali oznaku



+, a kod ne-kušača -. Po završetku testiranja napravljena je analiza prikupljenih podataka i anketa o prehrabbenim navikama. Prvi dio obrade odnosio se na tablični prikaz za svakog pojedinog ispitanika, potom su uspoređeni rezultati svih ispitanika podijeljenih u dvije skupine kušači i ne-kušači. Rezultati su prikazani grafički.



Slika 4. Prikaz pribora potrebnog za provođenje istraživanja

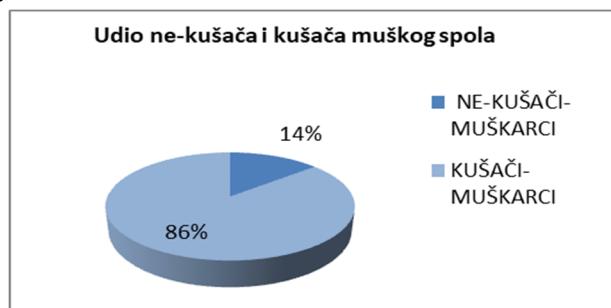
REZULTATI

Svi ispitanici otopinu 1 su pri testiranju opisali su kao otopinu bez okusa, što je razumljivo jer se radilo o običnoj vodi. Većina ispitanika otopinu 2 opisala je kao gorku, neugodnog, metalnog okusa (kušači), dok jedan dio ispitanika nije osjećao razliku u odnosu na otopinu 1 (ne-kušači). Na slici 5 prikazan je udio kušača i ne-kušača u ukupnom uzorku. Od ukupno 50 ispitanika, njih 15 ne osjeća okus 0,025%-tne otopine PTC te su oni ne-kušači, a gorak okus osjeća 35 ispitanika (kušači).



Slika 5. Udio kušača i ne-kušača u ukupnom uzorku

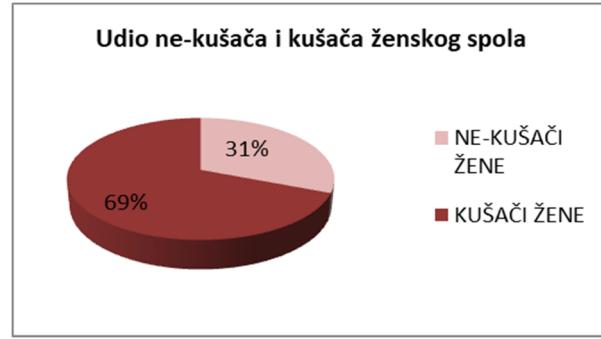
Od ukupnog broja ispitanika samo je 14 muškog spola (28% uzorka). Udio ne-kušača i kušača kod muških ispitanika vidljiv je na slici 6.



Slika 6. Udio ne-kušača i kušača kod muških ispitanika

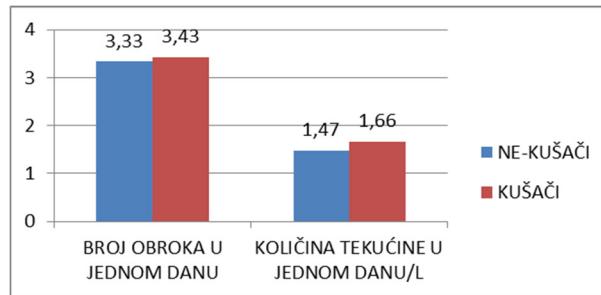


U istraživanju je sudjelovalo 36 ispitanica. Udio ne-kušača i kušača kod ženskih ispitanika vidljiv je na slici 7.



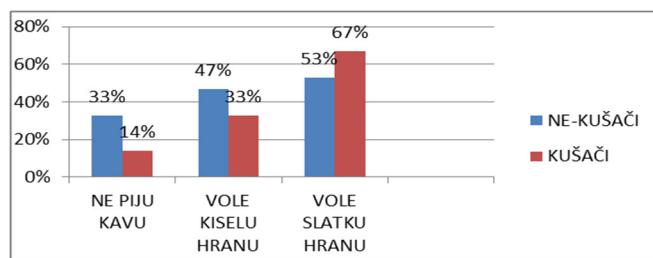
Slika 7. Udio ne-kušača i kušača kod ženskih ispitanika

Slika 8 prikazuje srednje vrijednosti broja obroka i količine tekućine u jednom danu kod ne-kušača i kušača.



Slika 8. Srednje vrijednosti broja obroka u jednom danu te količina unesene tekućine u jednom danu u litrama kod ne-kušača i kušača

Rezultati ankete pokazuju da ne-kušači u većem postotku vole kiselu hranu, a kušači slatku hranu i više piiju kavu što je vidljivo na slici 9.

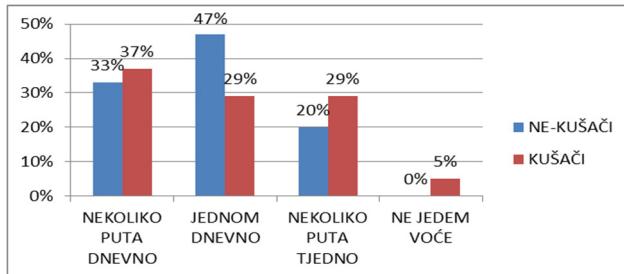


Slika 9. Odnos ne-kušača i kušača u afinitetu prema kavi, kiseloj i slatkoj hrani

Rezultati ankete pokazuju da ne-kušači više i češće konzumiraju voće od kušača (slika 10).

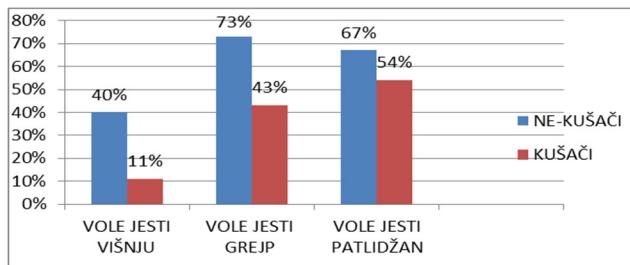


Volite li grejp?



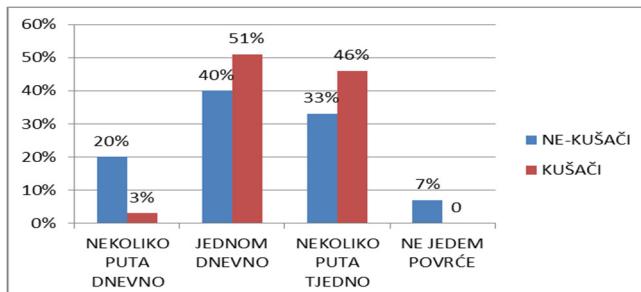
Slika 10. Učestalost konzumiranja voća kod ne-kušača i kušača

Rezultati ankete pokazuju da ne-kušači više vole jesti višnju, grejp i patlidžan od kušača (slika 11).



Slika 11. Odnos ne-kušača i kušača u afinitetu prema višnji, grejpu i patlidžanu

Veći postotak ne-kušača svakodnevno konzumira povrće od kušača (slika 12).



Slika 12. Učestalost konzumiranja povrća kod ne-kušača i kušača

RASPRAVA

Jedan od ciljeva projekta bio je istražiti udio kušača i ne-kušača u uzorku. Početna hipoteza bila je da će postotak ne-kušača biti između 25% i 30%. Istraživanjem je dobiveno 30% ne-kušača i 70% kušača u uzorku. Pavlica i sur. (2001) proveli su slično istraživanje, ali s nižom koncentracijom PTC-a. Rezultate su analizirali i s obzirom na regionalno porijeklo. Neosjetljivost na PTC otkrili su kod 32% uzorka stanovnika hrvatske nacionalnosti iz Srijema. Iz istraživanja Pavlice i sur. (2001) zaključujemo da rezultati mogu varirati i s obzirom na geografsko i regionalno porijeklo.

Analiza kušača i ne-kušača s obzirom na spol pokazuje značajne razlike. U uzorku muških ispitanika ne-kušača je 14 %, a u uzorku ženskih ispitanika 31 %. Ove rezultate ipak treba proučavati s oprezom jer je bio mali broj ispitanika muškog spola. Rezultati se ne poklapaju s rezultatima Šapine (2014). Šapina



(2014) je proveo istraživanje u kojem su osobe ženskog spola imale veću sposobnost raspoznavanja okusa PTC-a. Prepostavlja se da razlog leži u većem uzorku.

Analizom navika pijenja kave kušača i ne-kušača PTC-a dobiveni su rezultati koji se ne poklapaju s pretpostavkom. Pretpostavka je da ne-kušači u većem postotku piju kavu od kušača. Rezultati su upravo suprotni. Dakle, u ovom istraživanju nije pronađena veza između osjećanja gorkog okusa PTC-a i navika pijenja kave. Rezultati analize pokazuju da je broj dnevnih obroka ne-kušača i kušača vrlo sličan. Obje skupine imaju između 3 i 4 obroka na dan.

Količina unesene tekućine ne razlikuje se značajno, kod ne-kušača je srednja vrijednost 1,47 L, a kod kušača 1,66 L. Ovi rezultati nisu objektivni jer ispitanici nisu mjerili, već su naveli procjenu unesene tekućine. Razlika je možda rezultat toga što su kušači općenito osjetljiviji na okuse od ne-kušača, pa imaju potrebu češće vlažiti usnu šupljinu.

Goldstein (2011) je utvrdio da kušači imaju gušće raspoređene okusne populjke od ne-kušača, prema tome osjetljiviji su na okuse. Slatku hranu više vole i kušači i ne-kušači, ali veći je udio ne-kušača (47%) koji vole kiselu hranu u odnosu na kušače (33%). Šapina (2014) je, ispitujući stanovnike Splita i Korčule, utvrdio negativnu povezanost između osjeta okusa PTC-a i konzumacije ugljikohidrata. Rezultat je suprotan rezultatima ovog ispitivanja, stoga prepostavljamo da su razlike nastale zbog veličine uzorka na kojem je provedeno istraživanje.

Uspoređujući rezultate sklonosti konzumacije višnje, grejpa i patlidžana, rezultati istraživanja pokazuju da su im ne-kušači skloniji od kušača. Rezultati su vjerojatno posljedica manje koncentracije okusnih populjaka na jeziku, zato ti ispitanici manje osjećaju gorčinu i kiselost te više vole ove namirnice.

Učestalost konzumiranja voća razlikuje se u uzorku kušača i ne-kušača. Ne-kušači jedu više voća i povrća, koji općenito gledajući nisu omiljene namirnice. Prepostavlja se da razlog tome leži u manjem broju okusnih populjaka, pa zbog toga ne-kušači radije konzumiraju te namirnice.

Vrijednosti dobivene istraživanjem djelomično se uklapaju u postojeće spoznaje. Pretpostavlja se da su odstupanja od postojećih spoznaja rezultat korištenja različitih koncentracija otopine PTC-a pri istraživanjima u dostupnoj literaturi, razlike veličine uzorka ispitanika te razlika u geografskom i regionalnom porijeklu.

Tijekom istraživanja ispitanici su uočili zanimljive reakcije ispitanika kušača koji su osjetili gorak okus 0,025%-tne otopine PTC-a (otopina 2). Neki ispitanici opisivali su gorčinu otopine 2 izrazito neugodnom, drugi su reagirali mnogo smirenije. Budući da je u uvodnom poglavlju rečeno da je osjećanje PTC-a dominantno svojstvo, mogući genotipovi (ako dominantni gen označimo kao A, a recessivni a) mogu biti homozigoti (AA) ili heterozigoti (Aa). Zanimljivo bi bilo napraviti istraživanje o tome ovisi li jačina osjeta PTC-a o tome je li osoba homozigot ili heterozigot za ovo svojstvo.

**ZAKLJUČCI**

Nakon analize rezultata dobivenih ovim istraživačkim radom može se zaključiti:

- U uzorku ispitanika više je kušača od ne-kušača.
- Muškarci su osjetljiviji na okus PTC-a, u odnosu na žene.
- Sklonost pijenju kave veća je kod kušača nego kod ne-kušača.
- Ne-kušači su skloniji kiseloj hrani, te više konzumiraju povrće i voće.
- Kušači su skloniji slatkoj hrani od ne-kušača.
- Konzumaciji višnje, grejpa i patlidžana skloniji su ne-kušači od kušača

LITERATURA

- Bendelja D., Culjak Đ., Lukša Ž., Operta E., Orešković E., Roščak R. 2014. Biologija 8, Školska knjiga, str. 95-97.
 Coren S., Ward L.M., Enns J.T. 2004. Sensation and perception, J.Wiley & Sons, str. 179-181.
 Goldstein E.B. 2011. Osjeti i percepcija, Naklada Slap, Jastrebarsko, str. 338-349.
 Jalšovec D. 2005. Sustavna i topografska anatomija čovjeka, Školska knjiga, str. 191-195.
 Lawless H.T., Heymann H. 1998. Sensory evaluation of food, Springer science Business media, LLC, str. 126-127.
 Pavlica T. 2001. Osetljivost na feniltiokarbamid i daltonizam kod odraslog stanovništva Srema. Glasnik Antropološkog društva Jugoslavije. 36, 81-86. <https://bit.ly/2AaEh1R>, pristupljeno 15.2.2019.
 Portada T. 2014. Kakvog je okusa feniltiokarbamid? Priroda. 104(2): 40-41.
 Šapina H. 2014. Sposobnost raspoznavanja okusa feniltiokarbamida i način prehrane stanovnika Splita i Korčule <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:010673>, pristupljeno 15.2.2019.

PRILOZI

Prilog 1. Anketa o prehrabnenim navikama i afinitetu (preferencijama) prema pojedinim namirnicama

	REDNI BROJ ISPITANIKA	REAKCIJA NA PTC	+	-
1.	POČETNA SLOVA IMENA I PREZIMENA			
2.	SPOL	M	Ž	
3.	OD KOLIKO OBROKA SE SASTOJI VAŠ DNEVNI OBROK?	_____	OBROKA	
4.	KOLIKO TEKUĆINE UNOSITE U ORGANIZAM U JEDNOM DANU?	_____	LITARA	
5.	PIJETE LI KAVU?	DA	NE	
6.	ZAOKRUŽITE HRANU KOJU VIŠE VOLITE.	KISELO SLATKO		
7.	KOLIKO ČESTO JEDETE VOĆE?	NEKOLIKO PUTA DNEVNO JEDNOM DNEVNO NEKOLIKO PUTA TJEDNO NE JEDEM VOĆE		
8.	ZAOKRUŽITE VOĆE KOJE VOLITE.	JABUKA JAGODA VIŠNJA NARANČA MANDARINA ŠIPAK		
10.	VOLITE LI JESTI GREJP?	DA	NE	
11.	ZAOKRUŽITE POVRĆE KOJE VOLITE.	TIKVICE PATLIDŽAN PROKULICE BROKULA KRASTAVCI RAJČICA		
12.	KOLIKO ČESTO JEDETE POVRĆE?	NEKOLIKO PUTA DNEVNO JEDNOM DNEVNO NEKOLIKO PUTA TJEDNO NE JEDEM POVRĆE		



UVJETOVANO UČENJE I INSTINKTIVNO PONAŠANJE ZAMORČIĆA

Magdalena Klarić, 1. razred

II. gimnazija, Zagreb

Mentor: Katarina Medić

SAŽETAK

Dokazano je učenje zamorčića principom klasičnog uvjetovanja. Zamorčići su skvičanjem, urođenim ponašanjem, reagirali na zvuk zvonca, nakon što su taj zvuk dresiranjem i uparivanjem povezali sa hranom. Mehanizmom operantnog uvjetovanja zamorčići su izdresirani napraviti četiri radnje različite složenosti: popeti se na kutiju, dati šapu, izvući kartu i okrenuti se, zavrtjeti. Brzina i učinkovitost učenja svakog pojedinačnog zadatka je različita za pojedinog zamorčića. Promatrana je aktivnost zamorčića prije i nakon hranjenja radi utvrđivanja utjecaja nedostatka hrane na ponašanje zamorčića. Zamorčići su u periodu kad im hrana nije bila dostupna pokazali veću aktivnost u većini promatranih ponašanja jer su najveći dio vremena utrošili na traženje hrane.

Ključne riječi: *klasično uvjetovanje; operantno uvjetovanje; učenje; instinkt*

UVOD

Ponašanje životinja je multidisciplinarno područje o svemu što životinje čine, bez obzira žive li solitarno ili u grupama. Istražuju se odnosi između samih životinja, njihovih okoliša, te sposobnost nalaženja partnera, novog teritorija, izbjegavanja predavata, briga prema mladima te migratorne sposobnosti. Različiti tipovi ponašanja omogućuju životnjama da se prilagode i prežive, te uspješno razmnožavaju, a njihove uzroke nalazimo u vanjskim simulativnim uzrocima te unutarnjim hormonalnim i neurološkim mehanizmima.

30-ih godina 20. stoljeća razvila se etologija. Osnivači su bili Konrad Lorenz, Niko Tinberger i Karl Von Frisch, europski zoolozi koji su podijelili Nobelovu nagradu za medicinu i fiziologiju 1973. godine. Trudili su se točno opisati različite tipove ponašanja pomoću eksperimentalnog rada, te su krenuli od sasvim nove pretpostavke da je vrlo kompleksno ponašanje životinja zasnovano na instinktima i naslijednim osobinama (Alcock, 1997). Kako bi životinje povećale mogućnost preživljavanja, instinkti i refleksi su neopisivo važni za brže i lakše uočavanje predavata, pravodoban bijeg, nalaženje hrane, čuvanje mладunaca. Instinkt je urođena sklonost živog organizma za određene tipove ponašanja. Oni su nenaučeni i naslijedni. Instinkтивno ponašanje, za razliku od onog naučenog (koje je životinja zapamtila, te za koje je bitno iskustvo), ne može se naučiti, a za određena instinktivna ponašanja potrebno je sazrijevanje (Wikipedia1, 2018). Refleksi su zbroj reakcija koje su potpuno ili djelomično pod utjecajem volje, a izazvani su različitim vanjskim podražajima, te su genetski uvjetovani. Refleksi pomažu životinji odgovoriti na različiti stimulans, te na taj način zaštititi sebe od mogućih štetnih posljedica. Naučeno ponašanje rezultat je iskustva i omogućuje prilagodbu u novim situacijama.

Životinje tijekom cijelog života uče, a najvažniji je period mladosti gdje uče od roditelja osnove preživljavanja, kako naći hranu, vodu, sklonište. Učenje je složeni proces promjene ponašanja na osnovi naučenog znanja, vježbe, ali i iskustva, gdje se podaci pohranjuju u pamćenje i koriste pri potrebi. Bez mogućnosti učenja mnoge bi životinje vrlo brzo izgubile bitku s preživljavanjem. Učenje životinja primarno se odvija na dva načina: putem asocijacije (klasično uvjetovanje) i putem posljedica (operantno uvjetovanje).



Tijekom 1890-ih godina, ruski fiziolog Ivan Pavlov (pionir biheviorizma) provodio je eksperimente sa psima kojima je dokazao princip klasičnog učenja. Zbog toga se ono ponekad zove i Pavlovljevo uvjetovanje (IndiDog, 2016). Pavlov je primijetio da psi u njegovom laboratoriju sline kad bi vrata laboratorija bila otvorena. Otvorena vrata laboratorija postala su signal psima da će biti nahranjeni. U ovom slučaju, slinjenje je urođeno ponašanje. Da bi dokazao svoju hipotezu klasičnog uvjetovanja, Pavlov je proveo svoj poznati eksperiment: svaki put prije hranjenja pasa puštao bi zvuk zvana. Nakon nekog vremena, zaključio je da sam zvuk zvana sada izaziva slinjenje (Wikipedia2, 2014). Zvuk zvana koji je do tada bio neutralni stimulans je postao uvjetovani stimulans (stimulans je bilo koja pojava, događaj ili promjena u okolini koju životinja može percipirati kroz barem jedno od svojih pet osjetila – vid, njuh, dodir, sluh ili okus koja uzrokuje tjelesnu reakciju ili reakciju ponašanja kod životinje). Zbog postojanja tog uvjetovanog stimulansa događa se slinjenje, odnosno sada uvjetovani refleks. Nešto što je prije bilo potpuno nepovezano sada uzrokuje pojavu urođenog ponašanja, odnosno spajanjem zvuka i hrane kod pasa je stvorena asocijacija čiji je rezultat bio slinjenje. Pavlov je ubrzo shvatio da povećanu salivaciju kod psa mogu izazvati i koraci istraživača. Pošto je u par prethodnih navrata pas dobio hranu nakon što je čuo korake, naučenim odnosno klasičnim uvjetovanjem, pas povezuje korake s potkrepljenjem, odnosno hranom (Neurofeedback centar, 2017). Kada mijenjamo već stvorenu asocijaciju drugom, radimo ono što se naziva protuvjetovanje.

Za razliku od klasičnog uvjetovanja u kojem se uspostavlja pasivno, refleksno odgovaranje na vanjske podražaje, kod operantnog uvjetovanja organizam je aktivan (ponašanja su svjesna). Američki psiholog Burhus Frederic Skinner (Šverko i sur., 2013) postavio je teoriju o operantnom uvjetovanju. Operantno uvjetovanje jest proces učenja u kojem se mijenja vjerojatnost pojavljivanja nekog odgovora na osnovi posljedica koje taj odgovor ima za organizam. Uvodi pojам potkrepljenja. Neki je događaj potkrepljenje ako njegova pojava nakon odgovora mijenja vjerojatnost pojavljivanja tog odgovora. Potkrepljivači mogu biti pozitivni (npr. hrana ili maženje) i negativni (npr. bolni podražaji). Povećanje frekvencije poželjnog ponašanja postiže se zadavanjem pozitivnih ili uklanjanjem negativnih potkrepljivača (Šverko i sur., 2013). Učestalost određene reakcije se povećava prisilom te se oblikuju nova ponašanja (Goodenough i sur., 2001). Najpoznatiji eksperiment koji se odnosi na operantno uvjetovanje je Skinnerova kutija poznat kao i komora operantnog uvjetovanja. U jednom takvom eksperimentu, Skinner je demonstrirao principe operantnog uvjetovanja i oblikovanja ponašanja na štakoru pri čemu je kao potkrepljenje koristio hranu. Izgladnjeli štakor stavljen je u kutiju, u kojoj bi pritiskom na malu polugu pustio hranu u kutiju. Taj štakor je ubrzo naučio da će pritiskom poluge dobiti hranu. U drugom pokusu, u kutiju su uvedena dva svjetla (crveno i zeleno), a štakor bi dobio hranu jedino ako je jedno od njih bilo uključeno. Ubrzo je naučio razlikovati svjetla, i prestao je ili smanjio pritiskati polugu kad je "krivo" svjetlo bilo uključeno.

Glavni motiv nastanka ovog rada bila je želja da konstruktivno i kvalitetno provodim vrijeme sa svoja dva kućna ljubimca zamorčića koja uveseljavaju i ispunjavaju moju svakodnevnicu, pokušam ih potaknuti na nova učenja budući da više nisu mlade jedinke i polako gube interes za otkrivanjem te se dodatno educiram o njihovoj vrsti i ponašanju. Postoji desetak vrsta zamorčića, no gotovo svi koje držimo kućnim ljubimcima pripadaju vrsti *Cavia porcellus* (sistemska klasifikacija vrste se nalazi u tablici 1). Oni potječu iz Južne Amerike (Venezuela, Brazil, Peru), a prvi primjeri doneseni su u Europu u 16. stoljeću. Prirodna boja zamorčića je smeđa, no danas ih se može naći i u bijeloj, žućkastoj,



narančastoj i crnoj boji te jednobojsnih ili šarenih, a također su vidljive varijacije u dužini njihove dlake. Za razliku od većine ostalih glodavaca, oni nemaju rep. Zamorčićima su noge relativno kratke u odnosu na tijelo te imaju po 4 prsta na prednjim i po 3 prsta na stražnjim nogama. Zbog nepostojanja palca i konfiguracije kandži ne koriste svoje šapice za manipulaciju hranom (Lazar, 2008). Isto tako, radi sprječavanja prekomjernog rasta sjekutića, nužno im je osigurati drvene grančice, tvrde pelete ili mrkvu (Sachser i sur., 2007). Poput primata i ljudi nužan im je unos dovoljne količine C-vitamina hranom jer u protivnom mogu oboljeti od skorbuta i uginuti u roku od 14 dana (Ritskes-Hoitinga i Strubbe, 2007). Aktivnosti zamorčića ne ovise o svjetlosnom režimu dan/noć (Sachser i sur., 2007). Kod njih prevladava tzv. *ultradialni* ritam tijekom kojeg se izmjenjuju faze aktivnosti s fazama odmora. Društvene su životinje koje su najsretnije ako žive u paru ili u manjim skupinama. Jedna od osnovnih karakteristika po kojima su ove životinjice toliko simpatične jest i njihovo glasanje. Po ispuštenom zvuku vlasnik može znati je li njegov ljubimac gladan (zvuk skvičanja), uplašen (zvuk pištanja) ili ljut (cvrkutanje).

Tablica 1. Sistematska klasifikacija domaćeg zamorčića

Carstvo	Animalia
Koljeno	Chordata
Razred	Mammalia
Red	Rodentia
Podred	Hystricomorpha
Porodica	Cavidae
Rod	Cavia
Vrsta	<i>Cavia porcellus</i>

Ciljevi ovog rada su sljedeći:

- ➊ Naučiti zamorčiće povezati zvuk zvonca s hranom i reagirati na taj zvuk refleksnom reakcijom, tj. glasanjem (skvičanjem) te time dokazati principe klasičnog uvjetovanja. Moja pretpostavka jest da će zamorčići Pavlovlevim uvjetovanjem i protuuvjetovanjem moći povezati zvuk zvonca s hranom te reagirati na taj zvuk glasanjem (skvičanjem).
- ➋ Koristeći teoriju Skinnerove kutije naučiti zamorčiće svladati 4 zadatka različite složenosti i time dokazati principe operantnog uvjetovanja. Moja pretpostavka je da će ova zamorčića svladati određene zadane radnje, ali različitom brzinom, kao i da će učinkovitost obavljanja pojedinog zadatka biti različita.
- ➌ Promatrati razlike u ponašanju zamorčića u novom okruženju opremljenom različitim predmetima za igru prije (prepostavljamo da su životinje gladne) i poslije hranjenja (zamorčići su potpuno siti) te time utvrditi postojanje prirodnog instinkta za potragom hrane. Moja pretpostavka je da bi životinje trebale pokazati veću aktivnost kad su gladne, odnosno kad im je hrana uskraćena. Također sam htjela provjeriti utječe li činjenica da su moji zamorčići pitomi kućni ljubimci koji su se prilično dobro "udomačili" u našem domu na moju pretpostavku.

METODE RADA

Istraživanje je provedeno u razdoblju od rujna 2018. do siječnja 2019. godine, s kratkim stankama između pojedinih dijelova rada. Dio istraživanja koji je snimljen kamerom i analiziran proveden je u školi uz prisustvo mentora.

Testni organizmi korišteni u ovom istraživanju su zamorčići (slika 1). Testirani zamorčići su mužjaci stari 5 godina. Prvi zamorčić je smeđe-bijele boje i teži 925 grama, a drugi je crno-bijelo-žute boje i teži 975 grama. Oba zamorčića su u odličnom zdravstvenom stanju.



Slika 1. Skviki (desno; prvi zamorčić) i Miško (lijevo; drugi zamorčić)

Klasično uvjetovanje

U pripremnom dijelu pokusa zamorčiće se navikavalo na dobivanje hrane nakon zvona. Pokretanjem zvonca proizveo se zvuk, nakon kojeg su životinje dobole mrkvu ili jabuku. Isprva niti jedan nije reagirao na zvonce, ali nakon četiri dana pokušavanja, prvi zamorčić je počeo reagirati na zvuk zvona podizanjem glave. Kasnije tog istog dana zaskvičao je na zvuk zvonca. Drugi zamorčić i dalje nije reagirao na zvonce, ali je reagirao podizanjem glave na skvičanje prvog zamorčića. Nakon šest dana drugi zamorčić je zaskvičao na zvuk zvonca. Kad su životinje bile upoznate s tim zvukom, provedena su dva mjerjenja. Prvo mjerjenje je trajalo deset dana, jedan put dnevno (ukupno deset pokušaja). Testiralo se koliko puta će zamorčići reagirati na zvuk zvona ako se nalaze u istom kavezu i zajedno primaju podražaj (tu se opet promatraju životinje i pojedinačno, odnosno reagira li neki "zakašnjelo" tj. na reakciju onog drugog). Prvo je mjerjenje provedeno iz razloga što su zamorčići jako osjetljivi na samoču i pretpostavka je bila da se međusobnim udaljavanjem neće moći usredotočiti na hranu (tj. zvonce), nego će biti uznemireni i tražiti onog drugog. Drugo mjerjenje je također trajalo 10 dana, jedan put dnevno. Jedan je zamorčić prebačen u transportni kavez i time udaljen od drugog, životinje su podražaj primale pojedinačno. Drugim mjerjenjem testirano je jesu li oba zamorčića povezala zvuk zvona s hranom (za vrijeme pokusa je primijećeno da drugi zamorčić reagira na skvičanje prvoga), iako nije bilo poznato hoće li faktor usamljenosti utjecati na konačne rezultate. Izračunata je učestalost reakcije (R) na podražaj prema navedenoj formuli te izražena u postotku (%):

$$R = \frac{\text{broj reakcija}}{\text{ukupan broj reakcija}} \times 100$$

Shematski prikaz učenja zamorčića klasičnim uvjetovanjem predstavljen je na slici 2.



Slika 2. Shematski prikaz učenja klasičnim uvjetovanjem



Operantno uvjetovanje

U pripremnom dijelu pokusa, kojim se dokazuje princip operantnog uvjetovanja, pred zamorčiće je bila postavljena kutija, zatim su na kutiju bili postavljeni zamorčići, nakon čega je uslijedila nagrada, tj. mrkva ili jabuka. Nakon svakog ponovnog postavljanja zamorčića na kutiju u prvom dalnjem koraku pokušalo ih se navesti da se sami popnu na kutiju lupkanjem prstima po njoj te izgovaranjem riječi "kutija". Isprva nisu shvaćali što trebaju napraviti, međutim nakon jednog dana prvi zamorčić se popeo na kutiju. Drugom zamorčiću bila su potrebna četiri dana za svladavanje zadatka. U drugom koraku operantog učenja, pokušalo ih se naučiti da se popnu na kutiju samo na naredbu "kutija". Prvi zamorčić je opet nakon jednog dana shvatio što treba napraviti, dok je drugi radnju savladao nakon dva dana učenja. Nakon što su životinje uvježbale penjanje na kutiju, uslijedilo je mjerjenje. Mjerjenje je provedeno u razdoblju od pet dana, dva puta dnevno (ujutro oko 9 i navečer oko 18 sati) u trajanju od pet minuta kako bi se izbjegao mentalni (psihički) napor zamorčića, osigurala njihova dovoljna koncentracija i zadržao interes za "igru". Mjerjenje je tako podijeljeno na 10 perioda. Testirana je učinkovitost svladavanja naučene vještine prema sljedećem principu: brojale su se reakcije zamorčića na naredbu (riječ "kutija") zadanu unutar pet minuta. No, tijekom mjerjenja zamorčići su se znali zbuniti ili izgubiti interes (tj. okrenuli bi se od kutije) ili odšetati od kutije. Tako da, kad bi se zbunili ili izgubili interes, naredbu "kutija" ponovno se uparilo s lupkanjem prstima po njoj, a kad bi zamorčići odšetali od kutije ponovno su bili postavljeni na istu. Shematski prikaz dresure u postupnim koracima predstavljen je slikom 3.

Izračunata je učinkovitost svladavanja vještine (Z) za pojedinu životinju prema formuli:

$$Z = \frac{\text{prosječan broj reakcija u kategoriji}}{\text{prosječan broj naredbi (d)}} ; \quad d = \frac{\text{ukupan broj naredbi}}{\text{broj mjerjenja}}$$

Učinkovitost svladavanja vještine izražena je postotkom te je napravljena usporedba rezultata u svakoj kategoriji među zamorčićima i prikazana grafički.

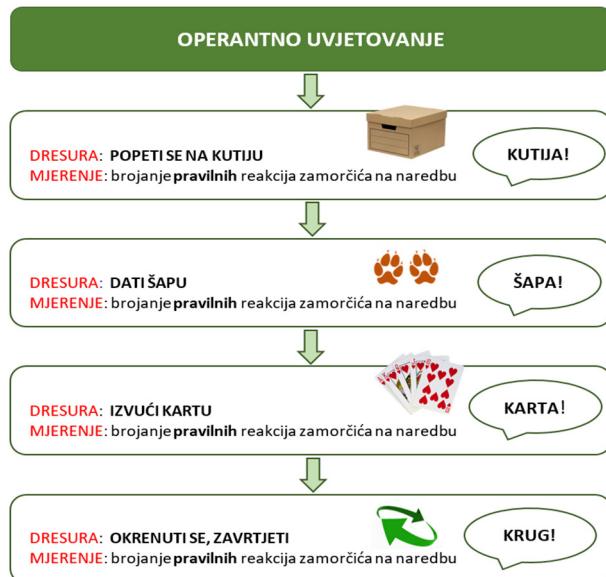


Slika 3. Shematski prikaz dresure na primjeru zadatka popeti se na kutiju

Prema opisanom principu operantnog uvjetovanja, zamorčići su postupno, malim koracima, izdresirani napraviti još tri zadatka različite složenosti: dati šapu; izvući kartu; okrenuti se – zavrtjeti. Dresura se odvijala tri puta dnevno po 20 min (sat vremena dnevno) u različitim razdobljima za pojedini zadatci. Uspoređen je vremenski period (vrijeme dresure) potrebno za potpuno usvajanje određene vještine prvog i drugog zamorčića i prikazan grafički. Pojmom „potpuno usvajanje“ određene radnje podrazumijevana je reakcija isključivo na naredbu ("krug", "šapa" i "karta") bez uparivanja naredbe sa popratnim podražajem te je nazvana pravilnom reakcijom. Brojane su pravilne reakcije za pojedinu vještinu unutar 10 perioda od 5 min za oba zamorčića što možemo pratiti grafičkim prikazima. Izračunat



je prosječan broj pravilno izvedenih reakcija (trikova) za svakog zamorčića u pojedinom zadatku kao i apsolutne i relativne pogreške. Shematski prikaz mehanizma učenja operantnim uvjetovanjem predstavljen je slikom 4.



Slika 4. Shematski prikaz učenja operantnim uvjetovanjem

Promjene u ponašanju zamorčića u odnosu na režim prehrane

U pripremnom dijelu pokusa, životinje (tijekom dana kad je pokus izvođen) nisu boravile u velikom kavezu koji je za potrebe istraživanja svaki put na dan pokusa nanovo uređen. Osim standardne opreme kaveza, stavljeni su različiti predmeti da bi se potaknula znatiželja kod životinja: pluteni čep, drvena prečkica, žičana kugla, veliki drveni tunel, mali kartonski tunel, tkanina, loptica, drvena kućica, uže. Pokus je proveden četiri puta unutar četiri tjedna (dakle jedan put tjedno) da bi se svaki put osigurala zainteresiranost životinja za novouređeni ambijent. U danu kad se pokus provodio, zamorčići su stavljeni na poseban režim prehrane. Imajući na umu da su to životinje koje imaju neprestanu potrebu za hranom, a budući da su moji zamorčići kućni ljubimci te im je i hrana neprestano dostupna, pazilo se da se tijekom toga dana osigura period u kojem se pretpostavilo da su životinje gladne. Životinje su snimane u velikom novouređenom kavezu u dva ciklusa po 60 min. Prvi ciklus se odvijao nakon što im je hrana tijekom dana bila uskraćena, a u drugi ciklus snimanja odvijao se neposredno nakon hranjenja zamorčića (životinje su potpuno site). Životinje su snimane svaki put otprilike u isto vrijeme, u kasnim poslijepodnevnim satima. Snimke su pregledavane i analizirane. Promatralo se vremensko trajanje svakog pojedinog ponašanja za obje jedinke prije i nakon hranjenja. Ponašanja koja su promatrana podijeljena su u 4 kategorije:

- ➊ kontakt sa objektom: guranje objekta njušicom; dodir objekta sa 1 ili 2 šapice; dodir sa 1 ili 2 šapice i njušicom; držanje ustima (griženje); skok na objekt; podvlačenje pod objekt; njuškanje bez dodira; dodir sa kavezom sa 1 ili 2 šapice; kopanje (piljevina)
- ➋ kontakt s drugom jedinkom: kontakt; bliski kontakt; lovljenje; griženje
- ➌ kretanje: aktivno/spavanje
- ➍ higijena: protresanje, brisanje krvna, češkanje

Rezultati mjerenja unosili su se u tablicu te je izračunata ukupna vrijednost trajanja svakog pojedinog ponašanja tijekom sva četiri mjerena za oba zamorčića prije i nakon hranjenja. Shematski prikaz



provedbe praćenja promjena u ponašanju zamorčića u odnosu na režim prehrane predstavljen je slikom 5. Dobiveni podaci istraživanja statistički su obrađeni koristeći računalni program Excel.



Slika 5. Shematski prikaz provedbe praćenja promjena u ponašanju zamorčića u odnosu na režim prehrane

REZULTATI

Promjene u ponašanju zamorčića predstavljene su s obzirom na klasično uvjetovanje, operantno uvjetovanje te s obzirom na promjene u odnosu na režim prehrane.

Klasično uvjetovanje

Učinkovitost svladavanja zadatka (glasanje na zvuk zvonca) naučenog klasičnim uvjetovanjem prikazana je tablicom 2.

Tablica 2. Reakcije zamorčića na zvuk zvona prilikom zajedničkog i pojedinačnog primanja podražaja

POKUŠAJ	PRVI ZAMORČIĆ		DRUGI ZAMORČIĆ	
	POJEDINAČNO	ZAJEDNO	POJEDINAČNO	ZAJEDNO
1.	reakcija	reakcija	nema	reakcija
2.	reakcija	reakcija	reakcija	zakašnjela reakcija
3.	reakcija	reakcija	reakcija	zakašnjela reakcija
4.	reakcija	reakcija	nema	reakcija
5.	reakcija	reakcija	reakcija	reakcija
6.	reakcija	reakcija	reakcija	reakcija
7.	reakcija	reakcija	reakcija	zakašnjela reakcija
8.	reakcija	reakcija	nema	reakcija
9.	reakcija	reakcija	reakcija	zakašnjela reakcija
10.	reakcija	reakcija	nema	reakcija

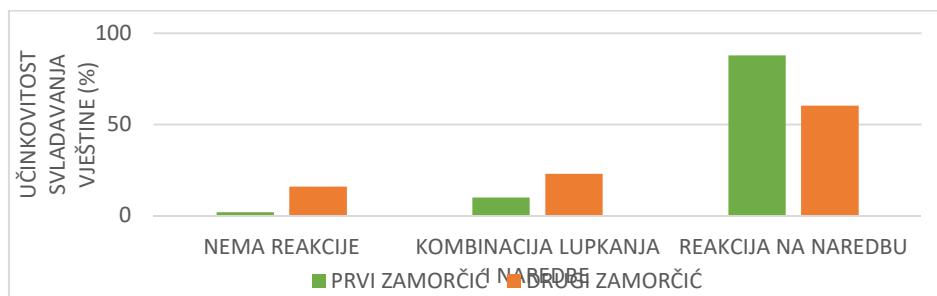
U prvom mjerenu, gdje su zamorčići zajedno primali podražaj, prvi zamorčić je gotovo uvek istovremeno reagirao sa zvukom zvonca („reakcija“). Za razliku od njega, drugi zamorčić je u većini slučajeva isto tako odmah zaskvičao na zvonce, ali je nekoliko puta krenuo skvičati nakon reakcije svog sustanara u kavezu („zakašnjela reakcija“). U drugom mjerenu, gdje su zamorčići svaki zasebno primali podražaj, prvi zamorčić je opet istodobno reagirao na svaki zvuk zvonca, dok se drugi zamorčić četiri puta nije oglasio na proizvedeni zvuk. Učestalost reakcije u oba mjerena za prvog zamorčića iznosila je 100%, a za drugog zamorčića u oba slučaja 60%.

Operantno uvjetovanje

Dobiveni podaci o trajanju i načinu dresure te učinkovitosti svladavanja pojedinog zadatka naučenog operantnim uvjetovanjem za oba zamorčića su međusobno uspoređeni i prikazani tablično (tablica 3) i grafički (slike 6 –13).

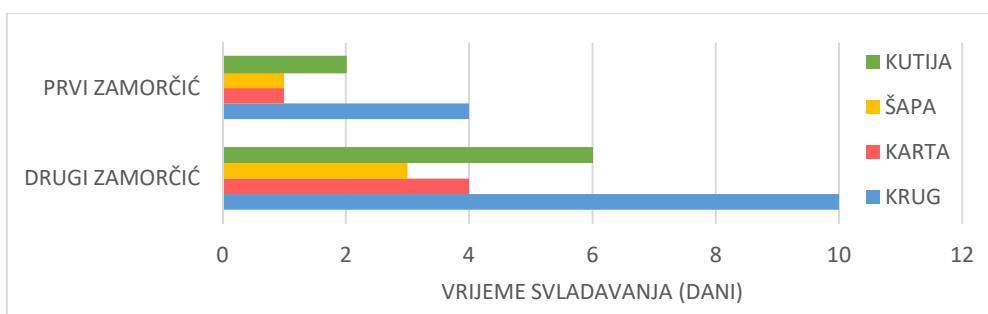
Tablica 3. Broj pravilnih i nepravilnih reakcija zamorčića na naredbu "kutija"

DAN	PERIOD	PRVI ZAMORČIĆ			DRUGI ZAMORČIĆ		
		NEMA REAKCIJE	REAKCIJA NA KOMBINACIJU LUPKANJA I NAREDBE	REAKCIJA NA NAREDBU	NEMA REAKCIJE	REAKCIJA NA KOMBINACIJU LUPKANJA I NAREDBE	REAKCIJA NA NAREDBU
1.	1.	4	6	7	1	3	7
	2.	0	4	18	3	5	6
2.	3.	0	3	13	7	3	3
	4.	0	0	23	1	3	13
3.	5.	0	0	24	5	3	9
	6.	0	1	20	6	4	4
4.	7.	0	3	23	1	5	15
	8.	0	1	23	2	5	9
5.	9.	0	3	19	0	4	14
	10.	0	1	27	0	3	18



Slika 6. Učinkovitost svladavanja zadatka "popeti se na kutiju" za oba zamorčića

Prvi zamorčić je u 88% slučajeva imao pravilnu reakciju na naredbu, u 10% slučajeva reagirao je na naredbu, ali uz uparivanje riječi "kutija" s lupkanjem po kutiji, a samo u 2% slučajeva nije imao nikakvu reakciju. Drugi zamorčić u 61% slučajeva reagira pravilno, u 24% slučajeva pokazuje reakciju (odnosno penje se na kutiju), ali uz pomoć lupkanja po kutiji, dok u 16% slučajeva nije reagirao na naredbu.

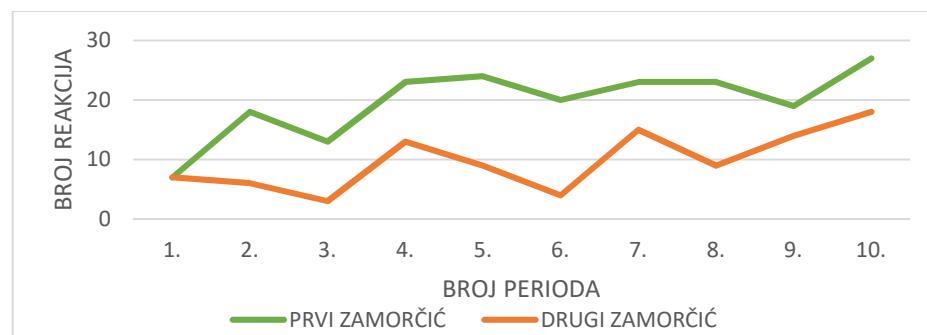


Slika 7. Vremenski period dresure u danima potreban za svladavanje pojedinog zadatka za oba zamorčića

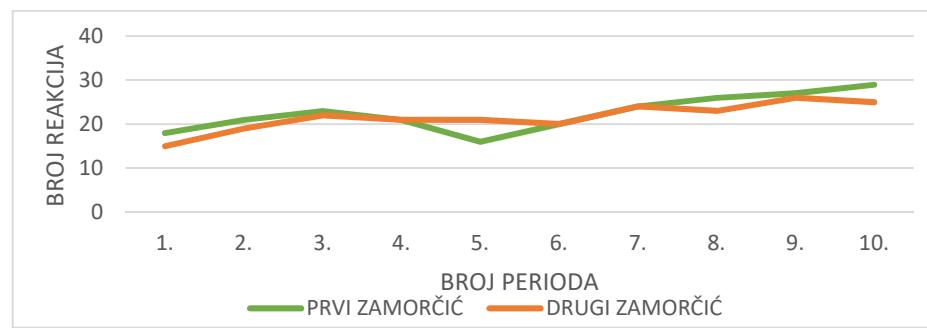
Iz grafičkog prikaza vidljivo je da dresura za izvođenje prvog zadatka "popeti se na kutiju" kojim zamorčići počinju proces operantnog uvjetovanja za prvog zamorčića traje 2 dana, dok je drugom



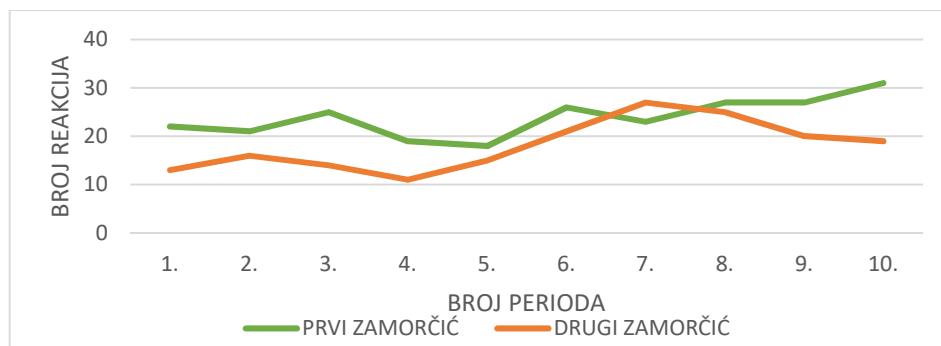
zamorčiću bilo potrebno 6 dana za učenje. Zadatke "dati šapu" i "izvući kartu", iako su složeniji, oba zamorčića savladala su puno brže nego prvi zadatak (prvom zamorčiću bio je potreban samo jedan dan učenja). Zadnju radnju "okrenuti se" prvi zamorčić savladao je unutar 4 dana, a drugi zamorčić je proveo 10 dana u učenju iste.



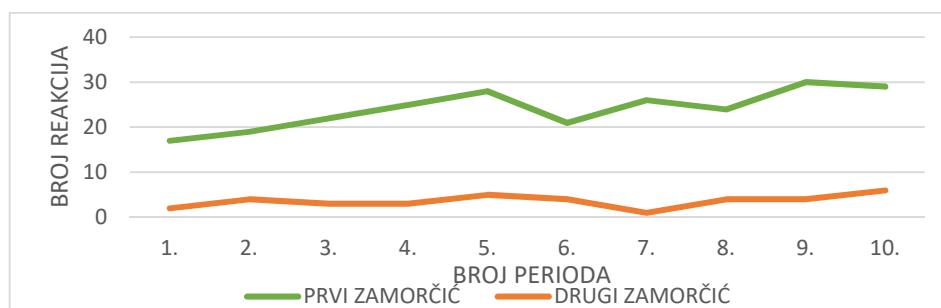
Slika 8. Usporedni prikaz broja pravilnih reakcija na naredbu "kutija" za oba zamorčića unutar 10 perioda



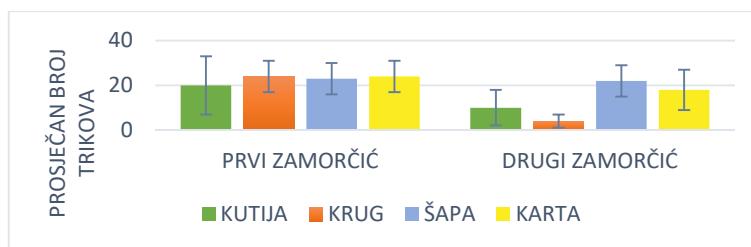
Slika 9. Usporedni prikaz broja pravilnih reakcija na naredbu "šapa" za oba zamorčića unutar 10 perioda



Slika 10. Usporedni prikaz broja pravilnih reakcija na naredbu "karta" za oba zamorčića unutar 10 perioda



Slika 11. Usporedni prikaz broja pravilnih reakcija na naredbu "krug" za oba zamorčića unutar 10 perioda



Slika 12. Prosječan broj trikova (pravilnih reakcija) za svakog zamorčića pojedinačno u obavljanju pojedinog zadatka

Najveća razlika u prosječnom broju reakcija ako usporedimo prvog i drugog zamorčića vidljiva je u obavljanju zadatka "krug" (prosječan broj trikova kod prvog zamorčića je 24, a drugi zamorčić u projektu ima samo 4 pravilne reakcije unutar pojedinog perioda). Značajnija razlika vidljiva je i u zadatu "popeti se na kutiju" (prvi zamorčić u projektu ima 20 pravilnih reakcija, a drugi zamorčić prosječno svega 10 pravilnih trikova). Prosječan broj pravilnih reakcija za zadatku "dati šapu" gotovo je identičan za obje životinje, prvi zamorčić prosječno 23, drugi zamorčić prosječno 22 pravilne reakcije po periodu.

Tablica 4. Apsolutne i relativne pogreške reakcija ova zamorčića na pojedinu naredbu unutar 10 perioda

	PRVI ZAMORČIĆ				DRUGI ZAMORČIĆ			
	KUTIJA	KRUG	ŠAPA	KARTA	KUTIJA	KRUG	ŠAPA	KARTA
ARITMETIČKA SREDINA	20	24	23	24	10	4	22	18
APSOLUTNA POGREŠKA	20±13	24±7	24±7	24±7	10±8	4±3	22±7	18±9
RELATIVNA POGREŠKA	65%	29%	29%	29%	84%	72%	31%	49%

Oba zamorčića pokazuju najveće odstupanje u obavljanju naredbe "kutija" (65% prvi zamorčić, a drugi čak 84%) što se pripisuje činjenici da je to prvi zadatak na kojem su se životinje dresirale, odnosno učile pamtitи pa samim time i broj pravilnih reakcija na naredbu varira u pojedinom periodu kod oba zamorčića te rezultat nije pouzdan. Veliko odstupanje zabilježeno je i kod drugog zamorčića u svladavanju zadatka okrenuti se (72%) što se pripisuje složenosti samog zadatka kojeg drugi zamorčić kao individua teže svladava.

Promjene u ponašanju zamorčića u odnosu na režim prehrane

Ukupno vremensko trajanje određenih interakcija s predmetima, različitih međusobnih kontakata i drugih karakterističnih ponašanja zamorčića u ovisnosti o režimu prehrane prikazani su tablicama 5 i 6.

Tablica 5. Ukupno vremensko trajanje kontakata među jedinkama označeno minutama i sekundama

	PONAŠANJE	TRAJANJE	
		HRANA	BEZ HRANE
	KONTAKT	26' 20"	53' 10"
	BLISKI KONTAKT	20' 45"	32' 45"
	LOVLJENJE	1' 40"	7' 15"
	SKVIČANJE	8' 10"	35' 00"
	GRIŽENJE	3' 30"	50"
KRETANJE	AKTIVNO	235' 0"	254' 50"
	SPAVANJE	231' 20"	197' 00"
HIGIJENA KRZNA	PROTRESANJE	15' 00"	12' 00"
	ČEŠKANJE	25' 20"	22' 00"
	BRISANJE KRZNA	24' 15"	20' 10"



Tablica 6. Ukupno vremensko trajanje određenih interakcija s objektom označeno minutama i sekundama

PONAŠANJE	PREDMET	TRAJANJE	
		HRANA	BEZ HRANE
DODIR OBJEKTA ŠAPOM I/ILI NJUŠKICOM	MALI KARTONSKI TUNEL	4' 30"	7' 05"
	TKANINA	2' 15"	8' 00"
DRŽANJE USTIMA (GRIŽENJE)	PLUTENI ČEP	1' 05"	12' 10"
	GRANČICE	1' 30"	15' 35"
SKOK NA OBJEKT	VELIKI DRVENI TUNEL	4' 20"	7' 30"
	DRVENA KUĆICA	16' 30"	14' 40"
PODVLAČENJE POD/U OBJEKT	VELIKI DRVENI TUNEL	8' 10"	12' 05"
	DRVENA KUĆICA	44' 20"	52' 30"
NJUŠKANJE BEZ DODIRA	KAVEZ	33' 50"	42' 10"
KOPANJE	GRANČICE (PILJEVINA)	11' 30"	15' 10"

Razlika u ukupnom vremenskom trajanju pojedinih ponašanja zamorčića u ovisnosti o režimu prehrane značajno je izražena u radnjama dodir objekta šapom ili njuškicom (6' 45" (hrana), 15' 05" (bez hrane)), držanje ustima, griženje (9' 25" (hrana), 43' 40" (bez hrane)) te podvlačenje pod/u objekt (52' 30" (hrana), 64' 35" (bez hrane)). Radnja skok na objekt nije pokazala razliku u ukupnom vremenskom trajanju ponašanja zamorčića u odnosu na režim prehrane (21' 25" (hrana), 22' 15" (bez hrane)).

RASPRAVA

Provedbom eksperimenta učenja klasičnim uvjetovanjem djelomično sam potvrdila svoju pretpostavku. Prvi zamorčić Pavlovljevim uvjetovanjem (i protuuvjetovanjem, zato što sam zamijenila stari stimulans novim) mogao je u potpunosti povezati zvuk zvonca s hranom i reagirati na taj zvuk skvičanjem, dok drugi zamorčić nije tako dobro povezao zvonce i hranu. Možda bi, kada bih ovaj pokus provodila nekoliko mjeseci, i drugi zamorčić jednako dobro shvatio povezanost zvonca i hrane, kao što je nakon dužeg vremena povezao zvuk otvaranja hladnjaka ili šuškanja plastične vrećice s dobivanjem hrane, iako sam primijetila da i na te zvukove prvi zamorčić puno brže reagira. Dobiveni rezultati su me iznenadili, jer sam smatrala da će oba zamorčića reagirati na podražaj (naravno, nakon što ga povežu s hranom) podjednako, ali se pokazalo da prvi zamorčić brže i bolje uči, dok drugi zamorčić uči sporije i teže. Budući da sam isključila mogućnost reagiranja zamorčića na bilo što drugo osim na zvuk zvonca, smatram da su dobiveni rezultati točni. Također, zamorčići su pokazali konstantni postotak učestalosti reagiranja (prvi reagira uvjek, a drugi u 60 % slučajeva) te samoća nije utjecala na konačne rezultate pokusa. Svakako ono što bih istaknula je da se prvi zamorčić tijekom mjerjenja u kojem su bili odvojeni i primali podražaj pojedinačno činio puno opušteniji, dok je drugi ipak pokazivao neke znakove nelagode (isprva se činio uplašenim, mirno je stajao, bile su mu vidljive bjeloočnice). Drugi zamorčić je u mjerenu kad su bili zajedno u kavezu i primali podražaj ipak svaki put reagirao skvičanjem, samo je u 40 % slučajeva ta reakcija bila na reakciju prvog zamorčića.

Tadić (2019) je u svojim opažanjima i istraživanjima o kogniciji životinja opisao proučavanje glavonožaca koje su znanstvenici proveli. Hobotnice, sipe i lignje beskralježnjaci su koji pokazuju brojne kognitivne sposobnosti svojstvene višim kralježnjacima. Najviše su istražene hobotnice kod kojih su uočene sposobnosti predviđanja, planiranja, možda čak i upotrebe alata. Primjećeno je da one spremno rješavaju probleme, brzo uče i u kratkom vremenu zapamte naučeno. Također su očite razlike među jedinkama u ponašanju i načinu rješavanja problema, poput kako nešto otvoriti li izvaditi, što govori o postojanju svojevrsne osobnosti, a nerijetko su zatečene i u igri. Hobotnice mogu učiti



promatrajući druge jedinke, iako su primarno samotnjačke životinje. Na primjeru zadatka otvaranje ljuštura školjkaša, promatrana je aktivnost hobotnice kada se nalazi sama u akvariju sa ljušturom školjkaša, gdje nije uočena njena interakcija sa ljušturom. Naprotiv, kada se u akvariju pored nalazila druga hobotnica (demonstrator) koja već spretno otvara ljuštu školjkaša, postupno promatrajući, hobotnica iz prvog akvarija (učenik) također krakovima uzima i nakon određenog vremena otvara svoju ljuštu (Tadić, 2019). Prema navedenom principu učenja promatranjem drugi je zamorčić zakašnjelo reagirao skvičanjem, slušajući glasanje prvog zamorčića.

Tadić (2019) je posebno naglasio spoznaju da hobotnice imaju svoju osobnost. Godinama istraživanja pokazalo se da se hobotnice razlikuju po aktivnosti (aktivne i manje aktivne), reaktivnosti (nervozne i mirne), odvažne, inhibirane (plašljive) te kombinacije svih tih karaktera. Upravo osobnost jedan je od razloga različitih rezultata mojih zamorčića dobivenih u proučavanju učenja operantnim uvjetovanjem. Prilikom dresure sva četiri zadatka prvi zamorčić je pokazao bolju koncentraciju te je u kratkom vremenu svladao pojedine naredbe. Drugom zamorčiću bilo je potrebno za svaku radnju puno više vremena te je tako za svladavanje naredbe "okret" trebao punih 10 dana. Radnje su bile različite složenosti te je razumljivo da su oba zamorčića za svladavanje okreta trebala najviše vremena. Također sam uočila da su naredbu "kutija" duže svladavali nego naredbe "šapa" i "karta" iako je po složenosti ona najmanje zahtjevna. Uzrok tome je činjenica da smo sa kutijom počeli učenje operantnim uvjetovanjem te je bio potreban određeni period da shvate i povežu što se od njih zahtjeva budući da ništa više nije nalikovalo njihovoj svakodnevici. Radnje "dati šapu" i "izvući kartu" jednostavnije su i brže naučili iako su složenije od prve radnje, ali su također i nadogradnja na istu (koriste se isti pokreti), što pripisujem činjenici da su do tad već polako ušli u proces učenja i pamćenja. Zadatak "okrenuti se" drugi zamorčić kao induvidua teže svladava radi složenosti same radnje.

Promatranjem određenih ponašanja, zamorčići su pokazali veću aktivnost kad su gladni odnosno kad im je hrana uskraćena, više su istraživali prostor, njuškali, bili u kontaktu s raznim objektima u kavezu, grickali različite predmete, kretali se, kopali po piljevini, dakle koristili prirodni instinkt u potrazi za hranom te samim time više vremena provodili u međusobnim kontaktima. Kad im hrana nije bila uskraćena, primjećuje se malo veća aktivnost međusobnog griženja, koju zamorčići zaista rijetko imaju u međusobnim interakcijama. Taj rezultat pripisujem međusobnoj igri zamorčića u novom okruženju bogatom raznim novim predmetima. Zamorčići nisu imali potrebu tražiti hranu, imali su više energije, pa je primijećeno i više igranja. Igra je vrlo važna za normalan razvoj mnogih vrsta životinja. Potiče razvoj refleksa, motoričkih sposobnosti, te u kasnijem životu borbu za teritorij, plijen i partnera. Igra dovodi do promjena u hormonalnom ili živčanom sustavu te ima veliku ulogu u dalnjem razvoju mlade jedinke (Goodenough i sur., 2001). Tijekom igre mozak otpušta dopamin, kemijska tvar koju povezujemo sa ugodom i nagradom. Smatra se da dopamin povećava želju za igranjem i međusobnim interakcijama. Tijekom igranja jedinki nema jakog ozljeđivanja i griženja, a životinje tijekom igre uče nova ponašanja.

ZAKLJUČCI

Dobiveni rezultati potvrđili su moje prepostavke u ovom istraživanju na temelju čega sam donijela sljedeće zaključke:

zamorčići uče klasičnim uvjetovanjem



- ↙ brzina učenja razlikuje se od jedinke do jedinke, odnosno individualna je
- ↙ samoča zamorčića ne utječe na rezultate učenja
- ↙ zamorčići reagiraju na zvukove i reakcije drugih zamorčića (učenje promatranjem)
- ↙ zamorčići uče operantnim uvjetovanjem
- ↙ hrana je pozitivan potkrepljivač prilikom učenja životinja
- ↙ brzina i učinkovitost svladavanja određenih vještina ovisi o složenosti zadatka
- ↙ novi predmeti pobuđuju znatiželju i potiču na igru
- ↙ zamorčići su aktivniji kad su gladni, odnosno nisu izgubili svoj prirodni instinkt za potragom hrane iako su kućni ljubimci

LITERATURA

- Alcock J. 1997. Animal behavior, an evolutionary approach. 6th Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts.
- Goodenough J., McGuire B., Wallace R. A. 2001. Perspectives on Animal Behavior. 2th Edition. John Wiley and Sons inc., New York.
- IndiDog, Klasično i operantno uvjetovanje, IndiDog edukacija i savjetovanje o ponašanju pasa, <https://indidogtraining.wordpress.com/vazne-informacije/osnovni-termini-i-koncepti/>, pristupljeno 17.10.2018.
- Lazar B. 2008. Verhalten von Meerschweinchen., <http://tierklinikduisburg.de/aktu17.htm> , pristupljeno 20.10.2018.
- Neurofeedback centar, Operantno i klasično uvjetovanje, <http://neurofeedbackcentar.com/operantno-i-klasicno-uvjetovanje/>, pristupljeno 17.10.2018.
- Ritskes-Hoitinga J., Strubbe H. 2007. Nutrition and Animal Welfare. In: Kaliste E. The Welfare of Laboratory Animals. Springer, Dordrecht, The Netherlands (85-110)
- Sachser N., Kunzel C. and Kaiser S. 2007. The Welfare of Laboratory Guinea Pigs. In: Kaliste E. The Welfare of Laboratory Animals. Springer, The Netherlands (181-210)
- Šverko B., Zarevski P., Szabo S., Kljaić S., Kolega M., Turudić-Čuljak T. 2013. Psihologija, udžbenik za gimnazije. Školska knjiga, Zagreb, str. 68-75.
- Tadić, Z. 2019. Kognicija životinja 1. dio. <https://radio.hrt.hr/ep/kognicija-zivotinja-1-dio/288641/>, pristupljeno 20.02.2019.
- Wikipedia1, Instinct, <http://en.wikipedia.org/wiki/Instinct> , pristupljeno 15.10.2018.
- Wikipedia2, Ivan Petrović Pavlov, https://hr.wikipedia.org/wiki/Ivan_Petrović_Pavlov, pristupljeno 17.10.2018.



BRZINA RAZGRADNJE SVLAKA VRSTA *Bitis arietans* I *Boiga dendrophila* U NEUTRALNOJ I BLAGO KISELOJ ZEMLJI

Konosić Tea, 2. razred

Rimac Marin, 3. razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: Vrbanović Dorotea

SAŽETAK

Istraživanje je provedeno u cilju određivanja najpovoljnijih uvjeta za razgradnju zmijskog svlaka u razdoblju od pedeset dana. U tu svrhu sakupljeni su uzorci svlaka zmija *Bitis arietans* i *Boiga dendrophila* te su izrezani na komade jednake površine. Po jedan komad svlaka pojedine zmije stavljen je u staklenku s vlažnom blago kiselom, suhom blago kiselom, vlažnom neutralnom i suhom neutralnom zemljom. Tijekom istraživanja praćena je pojava i brojnost mikroorganizama, promjena boje te intenzitet raspadanja svlaka. Kroz pedeset dana uočena je pojava pljesni i kultura bakterija te promjena boje na većini svlakova, izuzev sterilne kontrolne skupine gdje nije došlo ni do razvoja mikroorganizama niti do vidljive promjene na zmijskom svlaku. Istraživanjem je utvrđeno da se svlak arborealne zmije *Boiga dendrophila* brže razgrađuje u vlažnim uvjetima, dok se svlak terestričke zmije *Bitis arietans* brže razgrađuje u suhim uvjetima. Međutim, ne možemo govoriti o statistički značajnoj razlici u brzini razgradnje svlaka u pojedinim uvjetima. Usapoređujući brzinu razgradnje svlaka bez obzira na uvjete istraživanja uočena je puno brža razgradnja svlaka arborealne zmije u odnosu na terestričku.

Ključne riječi: svlak zmije; tlo; saprofiti; razgradnja

UVOD

Prema načinu prehrane razlikujemo autotrofne i heterotrofne organizme. Autotrofni organizmi su oni koji iz jednostavnih anorganskih tvari stvaraju organske tvari iz kojih dobivaju energiju. Heterotrofni organizmi su oni koji hranjive tvari uzimaju iz okoliša preko hranidbenog lanca. Posebna skupina heterotrofnih organizama su saprofiti. Prema Dolenec i Rusak (2013) oni razgrađuju složene organske molekule mrtvih organizama do najjednostavnijih komponenta, procesom mineralizacije, od kojih potom sintetiziraju spojeve koji su im potrebni za rast i razvoj. Oršolić (2013) navodi da saprofiti mogu biti obligatni i fakultativni. Obligatni ili isključivi saprofiti razvijaju se samo na mrtvoj organskoj tvari, a fakultativni saprofiti najveći dio svojeg života provode na mrtvoj organskoj tvari, jedino u iznimnim prilikama prelaze na žive organizme i tada žive parazitskim načinom života. Najvažniju ulogu u razgradnji životinjskih ostataka imaju saprofitne bakterije, dok su za razgradnju biljnih ostataka najvažnije saprofitne gljivice. Razgrađujući mrtvu organsku tvar, saprofitne gljive i bakterije oslobođaju energiju i vraćaju tlu mineralne tvari. Pljesni su saprofitne gljive koje su građene od hifa čije vidljive paučinaste nakupine čine micelij. Razmnožavaju se specijaliziranim stanicama koje se nazivaju spore. Spore mogu biti različitih oblika i boja, ali morfološki najčešće podsjećaju na jajolike oblike bijele do žute boje.

Tlo (zemlja) je kompleksan fizikalni, kemijski i biološki supstrat. Ono je heterogena smjesa koja sadrži krute, tekuće i plinovite tvari. U tlu dolazi do kompeticije korijenja biljaka i mikroorganizama za hranjive tvari i nutrijente. Važno svojstvo zemlje je njezina pH-vrijednost. Rast korijena biljaka je bolji u blago kiselim tlima, pH-vrijednosti od 5,5 do 6,5, dok je za razvoj bakterija povoljnije lužnato tlo (Taiz i Zeiger, 2002).



Zmije pripadaju razredu gmazova, odnosno redu ljuškaša (Brehm, 2003). Po staništima ih možemo podijeliti na arborealne, fosorijalne, terestričke i akvatičke. Koža im je suha i ona je zapravo nepropustan sloj prekriven ljuškama koji sprečava evaporaciju. Prema Gregov (2017) mijenjaju kožu i do nekoliko puta godišnje ovisno o starosti i frekvenciji rasta zmije te uvjetima u kojima živi. Tako će mlađe zmije češće mijenjati kožu zbog ubrzanih rasta. To se događa zato što im koža postane pretjesna ili istrošena, odnosno oštećena zbog puzanja. Prilikom presvlačenja odbacuju gornji rožnati sloj kože, ali ne i ljuške. Prije presvlačenja postaju statične, prestaju jesti, oči im se zamute te im koža promijeni boju. Istrošene kože se riješe struganjem o kamen ili koru drveta. Svlakovi zmije su prepoznatljivi te se pomoću njih može odrediti i vrsta zmije. Svlak zmijske kože se sastoji od tri sloja; vanjski sloj bogat beta-keratinom, srednji sloj bogat alfa-keratinom i lipidima te unutarnji sloj bogat alfa-keratinom (Itoh i sur., 1990).

Vrsta *Boiga dendrophila*, poznatija još pod nazivom Mangrovska zmija prebiva u području jugoistočne Azije i Australije, na područjima mangrovišuma i nižim predjelima tropskih šuma i primarno je arborealna noćna zmija (Rooij, 1915). Najčešće su crne, smeđe ili zelene boje s bijelim ili žutim prstenovima ili mrljama. Vrsta *Bitis arietans*, poznatija pod nazivom Afrička siktajuća ljutica terestrička je vrsta i rasprostranjena je na području cijele Afrike osim Sahare i tropskih šuma uz rijeku Kongo te na zapadu i jugu Arapskog poluotoka. Najčešće je svijetlosmeđe do žute boje s kockastim uzorcima crne ili tamno smeđe boje (McDiarmid, 1999). Obje vrste, *Boiga dendrophila* i *Bitis arietans* nalaze se u Zoološkom vrtu grada Zagreba u dijelu zmija otrovnica i člankonožaca. Terariji su im smješteni u prostoriji kojoj posjetitelji nemaju pristup. Prema informacijama timaritelja iz Zoološkog vrta dimenzije terarija vrste *Bitis arietans* su $90 \times 70 \times 50$ cm, a vrste *Boiga dendrophila* $90 \times 50 \times 80$ cm. Obje jedinice su oko pet godina u zatočeništvu, a terariji im se čiste 1–2 puta tjedno ovisno o potrebi.

Pretraživanjem Interneta uočen je nedostatak literature o brzini razgradnje zmijskog svlaka, kao i procesima zbog kojih do toga dolazi. Stoga, jedan od ciljeva ovog istraživanja bio je dokazati da saprofitne bakterije i gljivice iz tla razgrađuju zmijski svlak te utvrditi razlikuje li se ta razgradnja kod terestričkih i arborealnih zmija. Glavni cilj istraživanja bio je usporediti kako različiti uvjeti utječu na razgradnju svlaka. Blago kiseli i neutralni uvjeti odabrani su jer se u terarijima u Zoološkom vrtu koristi blago kiselo tlo koje inhibira rast i razvoj nepoželjnih bakterija (Carpenter i Broadbent, 2009). Istraživanjem se želi utvrditi inhibira li blago kisela zemlja rast mikroorganizama dovoljno da bude isplativa za korištenje u zoološkim vrtovima. Usporedba između raspada svlaka u vlažnoj i suhoj zemlji odabrana je zbog uvjeta na prirodnom staništu odabranih vrsta zmija. U istraživanju su korišteni svlakovi egzotičnih vrsta zmija zbog nedostupnosti svlaka domaćih zmija.

Ovim istraživanjem želi se:

- ➊ Otkriti koji će se zmijski svlak u prosjeku brže razgraditi.
- ➋ Utvrditi je li raspad svlaka brži u suhoj ili vlažnoj zemlji, odnosno blago kiseloj ili neutralnoj zemlji.
- ➌ Utvrditi na kojem će se svlaku i u kojim uvjetima razviti najviše saprofitnih organizama.
- ➍ Otkriti hoće li doći do razvoja mikroorganizama i razgradnje svlaka u kontrolnim uzorcima.



Poznato je da visoke temperature pospješuju procese konzervacije i isušivanja. S obzirom na to da zmija *Bitis arietans* u prirodnom staništu živi na pustinjskom području njena koža i svlak su manje vlažni. Prepostavka je da će se svlak zmije *Boiga dendrophila* brže razgraditi pod utjecajem saprofitnih organizama iz zemlje od svlaka zmije *Bitis arietans* te da će razgradnji pogodovati vlažni neutralni uvjeti.

METODE RADA

Uzorkovanje svlaka

U Zoološkom vrtu grada Zagreba, 7. siječnja 2019. godine prikupljeni su svlakovi terestričke zmije *Bitis arietans* (slika 1) i arborealne zmije *Boiga dendrophila* (slika 2). Prema informacijama timaritelja, starost svlaka je oko 3 mjeseca, što znači da su se zmije presvukle u listopadu 2018. godine. Neposredno nakon presvlačenja svlak je sačuvan u zatvorenoj i suhoj prostoriji prosječne temperature 27 °C. U terariju se nalazila vodovodna voda u plastičnim posudicama dostupna zmijama za piće. Terarij vrste *Boiga dendrophila* dodatno se prska vodovodnom vodom kako bi se stvorili uvjeti prirodno vlažnog staništa.



Slika 1. a) Primjerak vrste *Bitis arietans* (izvor: <https://www.videoblocks.com/video/puff-adder-bitis-ariepants-in-defensive-position-with-flicking-tongue-southern-africa-xez3qii>), b) Uzorak svlaka



Slika 2. a) Primjerak vrste *Boiga dendrophila* (izvor: [https://en.wikipedia.org/wiki/Boiga_dendrophila#/media/File:Mangrovennachtaumatter_\(Boiga_dendrophila\).JPG](https://en.wikipedia.org/wiki/Boiga_dendrophila#/media/File:Mangrovennachtaumatter_(Boiga_dendrophila).JPG)), b) Uzorak svlaka

Priprema uzoraka

Svlak pojedine vrste izrezan je na sedam jednakih komadića. Na milimetarskom papiru ocrтana je površina 5×8 cm na koju se stavio svlak. Na njega je prislonjen ravan rub steriliziranog ravnala prema ocrтanim linijama na milimetarskom papiru te je svlak na tom mjestu izrezan steriliziranim skalpelom. Izrezani komadići svlaka čuvani su u zatvorenoj plastičnoj vrećici pet dana. Po jedan primjerak svlaka svake zmije odnesen je 14. siječnja 2019. godine na sterilizaciju u biološki odjel Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, u Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama pod nadležnošću prof.



dr. sc. Ivana-Krešimira Sveteca. Komadići svlaka sterilizirani su u laminaru, na način da je svlak stavljen u otvorenu Petrijevu zdjelicu i tretiran UV zrakama trideset minuta na svakoj strani.

Postavljanje istraživanja

U sterilne staklenke od 720 mL stavljen je 200 mL zemlje. Zbog velike količine zemlje potrebne za istraživanje ona nije uzorkovana iz Zoološkog vrta. Korištena je kupovna zemlja „Humovit“ (pH-vrijednosti 5, iščitano s pakiranja), lumbrikalno tresetni supstrat za cvijeće, te zemlja „Flora san“ (pH-vrijednosti 7, iščitano s pakiranja), univerzalni supstrat. Kako bi zemlja odgovarala uvjetima arborealne zmije, natopljena je vodovodnom vodom. Količina vode u odnosu na zemlju nije kvantificirana, ali stavljen je dovoljno da se postignu vlažni uvjeti. U svaku staklenku stavljen je uzorak zemlje i svlaka prema uputama iz tablice 1, tako da svlak što većom površinom dodiruje zemlju. Staklenke pod brojevima 9 i 10 predstavljaju kontrolni uzorak. One ne sadrže zemlju već samo sterilizirani zmijski svlak.

Tablica 1. Prikaz uvjeta istraživanja u pojedinim staklenkama

Staklenka	Uvjeti	Svlak zmije
1	suha blago kisela zemlja	<i>Bitis arietans</i>
2	suha blago kisela zemlja	<i>Boiga dendrophila</i>
3	vlažna blago kisela zemlja	<i>Bitis arietans</i>
4	vlažna blago kisela zemlja	<i>Boiga dendrophila</i>
5	suha neutralna zemlja	<i>Bitis arietans</i>
6	suha neutralna zemlja	<i>Boiga dendrophila</i>
7	vlažna neutralna zemlja	<i>Bitis arietans</i>
8	vlažna neutralna zemlja	<i>Boiga dendrophila</i>
9	sterilno (kontrola)	<i>Bitis arietans</i>
10	sterilno (kontrola)	<i>Boiga dendrophila</i>

Svaka staklenka zatvorena je čepom u kojem je prethodno izbušena manja rupa. U otvor čepa stavljen je gusto namotana sterilna vata i sve je prekriveno aluminijskom folijom. Takvom pripremom staklenki stvoren je sustav u kojem postoji optok zraka, ali ne bakterija i stranih čestica. Staklenke su stavljenе na jednake uvjete temperature te intenziteta i količine svjetlosti.

Kroz pedeset dana promatrane su promjene na svlaku tako da se staklenke nisu otvarale. Razvijeni mikroorganizmi identificirali su se na temelju morfoloških karakteristika prema ključu Duraković i Redžepović (2002). Na kraju istraživanja izmjerene su površine svlaka i uspoređene s početnim površinama. Proces mjerjenja izvršen je u digestoru kako bi se minimiziralo moguće štetno djelovanje nastalih mikroorganizama, a samo mjerjenje vršeno je ucrtavanjem svlaka na milimetarski papir te mjeranjem broja kockica dimenzija 1 x 1 mm koje taj svlak prekriva. Svako mjerjenje izvršeno je istom metodom tri puta te je za vrijednost konačne površine svlaka uzeta aritmetička sredina triju mjerjenja. Za obradu podataka korištena je deskriptivna statistika i t-test kao statistički postupak za testiranje značajnosti razlike površine svlaka prije i poslije istraživanja.

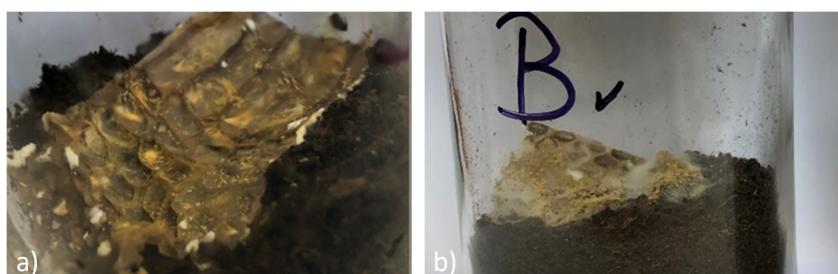
**REZULTATI**

Promatranjem uzorka kroz pedeset dana uočena je pojava mikroorganizama, promjena boje i raspad svlaka. Period promatranja podijeljen je na pet etapa po deset dana.

Na svlaku vrste *Bitis arietans* u svim uvjetima te u svim etapama istraživanja uočena je siva pljesan (slika 3a) i žute spore (slika 3b). Promjena boje najbrže se pojavila u staklenki s vlažnom neutralnom zemljom, a najsporije u staklenki sa suhom blago kiselom zemljom gdje je vidljiva samo u zadnjoj etapi istraživanja. Bakterije (slika 3c) su se neravnomjerno razvijale, a jedino nisu bile prisutne u staklenki sa suhom blago kiselom zemljom. U svim uvjetima došlo je do promjene boje i raspada svlaka (slika 4), a najbrže se počeo razgrađivati u suhoj neutralnoj zemlji. Na kontrolnom uzorku svlaka nije uočena promjena za vrijeme provođenja eksperimenta (tablica 2).



Slika 3. Uočene pojave na svlaku vrste *Bitis arietans*: siva pljesan (a), žute spore (b) i kolonije bakterija (c)



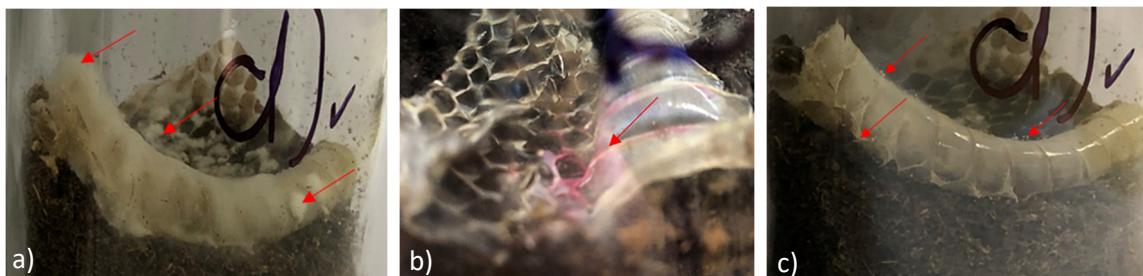
Slika 4. Promjena boje (a) i raspad svlaka (b) vrste *Bitis arietans*

Tablica 2. Prikaz uočenih promjena tijekom pedeset dana na svlaku vrste *Bitis arietans* u različitim uvjetima

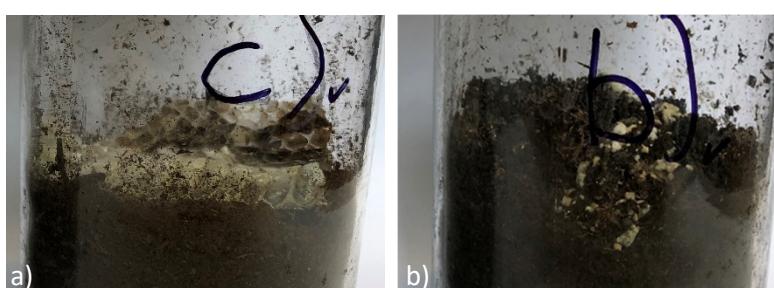
Uočena promjena uvjeti etapa	Siva pljesan					Kolonije bakterija					Žute spore					Promjena boje svlaka					Raspad svlaka					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Suha kisela zemlja	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	
Vlažna kisela zemlja	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
Suha neutralna zemlja	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
Vlažna neutralna zemlja	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+
Kontrola	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Na svlaku vrste *Boiga dendrophila* u svim uvjetima i u svim etapama istraživanja razvila se siva plijesan (slika 5a). Kolonije bakterija (slika 5b) i žute spore (slika 5c) uočene su samo u prvim etapama istraživanja. Promjena boje svlaka (slika 6a) uočena je samo u suhoj blago kiseloj zemlji u zadnjoj etapi istraživanja. Raspad svlaka (slika 6b) uočen je u svim uvjetima, a najbrže se počeo razgrađivati u vlažnoj neutralnoj i blago kiseloj zemlji. Na kontrolnom uzorku svlaka nije uočena promjena za vrijeme provođenja eksperimenta (tablica 3).



Slika 5. Uočene pojave na svlaku vrste *Boiga dendrophila*: siva plijesan (a), kolonije bakterija (b) i žute spore (c)



Slika 6. Promjena boje (a) i raspad svlaka (b) vrste *Boiga denrophila*

Izmjerene površine pojedinog svlaka nakon provedenog eksperimenta prikazane su u tablici 4. Najintenzivnije se razgradio svlak vrste *Boiga dendrophila* u vlažnoj blago kiseloj zemlji, dok se svlak vrste *Bitis arietans* u istim uvjetima neznatno razgradio. t-testom utvrđena je statistički značajna razlika u razgradnji svlakova različitih vrsta zmija ($p = 0,002$). Kod kontrolnih uzoraka nije došlo do promjene u površini svlaka.

Tablica 3. Prikaz uočenih promjena tijekom pedeset dana na svlaku vrste *Boiga dendrophila* u različitim uvjetima

Uočena promjena uvjeti etapa	Siva plijesan					Kolonije bakterija					Žute spore					Promjena boje svlaka					Raspad svlaka				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Suha kisela zemlja	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
Vlažna kisela zemlja	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Suha neutralna zemlja	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Vlažna neutralna zemlja	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Kontrola	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablica 4. Prikaz intenziteta razgradnje svlaka vrsta *Bitis arietans* i *Boiga dendrophila* u različitim uvjetima

Staklenka	Uvjeti	Svlak zmije	Početna površina /cm ²	Konačna površina /cm ²		Postotak razgradnje /%
				Izmjerena površina	Aritmetička sredina	
1	suha blago kisela zemlja	<i>Bitis arietans</i>	40	39,3	39,47	1,33
				39,6		
				39,5		
2	suha blago kisela zemlja	<i>Boiga dendrophila</i>	40	27,7	27,73	30,68
				27,5		
				28,0		
3	vlažna blago kisela zemlja	<i>Bitis arietans</i>	40	37,6	37,70	5,75
				37,5		
				38		
4	vlažna blago kisela zemlja	<i>Boiga dendrophila</i>	40	0,6	0,43	98,93
				0,3		
				0,4		
5	suha neutralna zemlja	<i>Bitis arietans</i>	40	26,8	26,93	32,68
				27,1		
				26,9		
6	suha neutralna zemlja	<i>Boiga dendrophila</i>	40	20,1	20,13	49,68
				20,0		
				20,3		
7	vlažna neutralna zemlja	<i>Bitis arietans</i>	40	34,3	34,47	13,83
				34,6		
				34,5		
8	vlažna neutralna zemlja	<i>Boiga dendrophila</i>	40	3,5	3,30	91,75
				3,1		
				3,3		
9	sterilno	<i>Bitis arietans</i>	40	40	40,00	0
				40		
				40		
10	sterilno	<i>Boiga dendrophila</i>	40	40	40,00	0
				40		
				40		

Za svaku staklenku izračunata je standardna pogreška i standardna devijacija za površine svlaka te je uočeno da ne postoje velike razlike u preciznosti izvršenih mjerjenja (tablica 5).

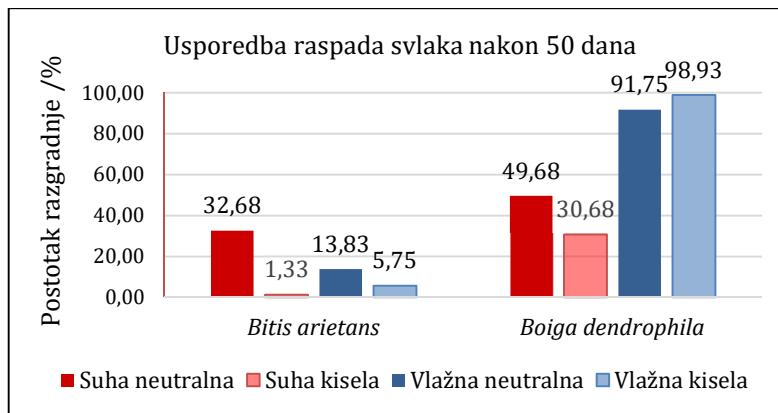
Tablica 5. Standardna pogreška i standardna devijacija za izvršena mjerena svakog uzorka

svlak zmije	staklenka	standardna pogreška aritmetičke sredine	standardna devijacija
<i>Bitis arietans</i>	1	0,15	0,27
	3	0,09	0,15
	5	0,12	0,2
	7	0,09	0,15
<i>Boiga dendrophila</i>	2	0,15	0,25
	4	0,09	0,15
	6	0,09	0,15
	8	0,09	0,15

Promatrajući vlažnost zemlje, uočeno je da se svlak vrste *Bitis arietans* brže razgrađuje u suhoj zemlji, s prosjekom razgradnje od 17,01%, dok se svlak vrste *Boiga dendrophila* brže razgrađuje u vlažnoj zemlji, s prosjekom razgradnje od 95,34% (slika 7). Prosjek razgradnje svlaka za obje vrste zmija u vlažnim uvjetima iznosi 52,57%, a u suhim uvjetima 28,59%. t-testom nije utvrđena statistički značajna razlika u razgradnji svlakova u vlažnim i suhim uvjetima ($p = 0,21$). Svlakovi obje vrste brže se razgrađuju



u neutralnoj zemlji s prosjekom razgradnje za vrstu *Boiga dendrophila* 70,72% i *Bitis arietans* 23,26%. Prosjek razgradnje svlaka za obje vrste u neutralnim uvjetima iznosi 46,99%, a u blago kiselim uvjetima 34,17%. t-testom nije utvrđena statistički značajna razlika u razgradnji svlakova u blago kiselim i neutralnim uvjetima ($p = 0,33$).



Slika 7. Postotak razgradnje svlakova vrsta *Bitis arietans* i *Boiga dendrophila* u svim uvjetima nakon 50 dana

RASPRAVA

Analizom rezultata mjerjenja površine svlaka vrsta *Bitis arietans* i *Boiga dendrophila* u različitim uvjetima utvrđeno je da neutralna zemlja pogoduje razgradnji svlaka obje vrste zmija, dok je vlažnija zemlja pogodnija za razgradnju svlaka vrste *Boiga dendrophila*. Usporedbom konačnih površina svih svlakova utvrđeno je da se najjače razgradio svlak vrste *Boiga dendrophila* u vlažnoj blago kiseloj i vlažnoj neutralnoj zemlji. Najslabije se razgradio svlak vrste *Bitis arietans* u vlažnoj i suhoj blago kiseloj zemlji, međutim uočena je velika promjena u čvrstoći svlaka, koja je nakon provedenog eksperimenta bila puno slabija. Promjena teksture i čvrstoće svlaka upućuje na početak razgradnje te možemo pretpostaviti da bi se svlak razgradio kada bi vrijeme promatranja bilo duže. Kroz pedeset dana na svlakovima su se razvile plijesan i bakterije, a njihovom razvoju pogodovali su uvjeti u staklenki i izvor hrane. Prema Setala i McLean (2004) te Kubartova i sur. (2009) povećana raznolikost mikroorganizama uglavnom pospješuje razgradnju organskih tvari, ali može imati i negativni efekt zbog kompeticije za nutrijente ili nepovoljnih abiotičkih čimbenika za pojedinu vrstu. Ovime se može objasniti manja razgradnja svlaka *Bitis arietans* na kojima se razvilo više vrsta mikroorganizama te razlike u razgradnji kod pojedinog uvjeta. Kroz istraživanje uočena je neselektivna i diskontinuirana pojava bakterija što se može objasniti dostupnošću pojedinih hranjivih tvari tijekom procesa razgradnje svlaka te sastavom zemlje. Zbog ograničenja istraživanja nije bilo moguće otvarati staklenke i odrediti vrstu bakterije u pojedinoj etapi već se samo mogla pratiti njihova prisutnost promjenom boje i strukture kolonija.

Jedan od ciljeva istraživanja bio je utvrditi hoće li se svlak brže razgraditi u neutralnoj ili blago kiseloj zemlji. Analizom dobivenih rezultata nije u potpunosti utvrđeno da se u prosjeku svlak najviše razgradio u neutralnoj zemlji što se djelomično slaže sa spoznajom o razvoju mikroorganizama u neutralnoj, odnosno blago kiseloj zemlji (Taiz i Zeiger, 2002). Približna razgradnja u neutralnoj i blago kiseloj zemlji može se objasniti malom razlikom u pH-vrijednosti zemlje. Prema Pommerville i sur. (2007) najveći dio bakterija raste u okolišu pH-vrijednosti od 6 do 8 što ukazuje na podjednaki razvoj mikroorganizama u



neutralnoj i blago kiseloj zemlji. Prema informacijama iz Zoološkog vrta u Zagrebu, zmije se drže u terarijima u kojima kao podloga služi kiseli treset kako bi se smanjio razvoj mikroorganizama, međutim ovim istraživanjem se dokazalo da se mikroorganizmi mogu razvijati i u blago kiselim uvjetima. Iako nisu uočene velike razlike u brojnosti mikroorganizama u neutralnim i blago kiselim uvjetima pretpostavlja se da se veći broj saprofitnih bakterija, nevidljivih ljudskom oku, nalazio u neutralnoj zemlji te je upravo zbog toga razgradnja svlakova u tim uvjetima bila neznatno jača. Obzirom na vlažnost zemlje, analizom rezultata nije se utvrdila statistički značajna razlika u razgradnji svlaka u vlažnoj i suhoj zemlji. Svlak vrste *Bitis arietans* jače se razgradio u suhoj zemlji, dok se svlak vrste *Boiga dendrophila* više razgradio u vlažnoj zemlji. Ovu pojavu možemo objasniti uvjetima u kojima žive pojedine vrste. Vrsta *Bitis arietans* živi u suhom terariju, a vrsta *Boiga dendrophila* u terariju koji se svaki dan prska vodovodnom vodom kako bi se održala visoka vlažnost zraka. Općenito, rezultati istraživanja ne slažu se sa saznanjima Nester i sur. (2004) koji navode da gljivicama i bakterijama više pogoduje vlažan okoliš.

Iz rezultata je vidljiva moguća povezanost žutih spora s promjenom boje svlaka koja se javlja samo kod vrste *Bitis arietans*, koji je podjednako promijenio boju u tamnosmeđu u svim uvjetima. Ovu razliku možemo objasniti prisutnošću drugačije vrste pigmenta i njegove količine u svlaku. Boja kože vrste *Bitis arietans* je smeđe-bijela za razliku od kože vrste *Boiga dendrophila*, koja je crno-bijela. Mogući razlog selektivnog razvijanja žutih spora je razlika u samoj građi svlaka ili u količini prisutnih hranjivih tvari u svlaku između dviju vrsta zmija.

Analizom podataka utvrđena je statistički značajna razlika između intenziteta razgradnje svlaka arborealne zmije *Boiga dendrophila* i svlaka terestričke zmije *Bitis arietans*. Istraživanjem je potvrđena hipoteza da će se svlak arborealne zmije brže i jače razgraditi od svlaka pustinjske zmije. S obzirom na to da zmije žive u različitim uvjetima pretpostavlja se da im je koža građena na drugačiji način, odnosno da je koža terestričke zmije suha i čvršća zbog podloge na kojoj obitava, dok je koža arborealne zmije vlažna i mekša. Kibblewhite i sur. (2015) navode da suhi okoliš pogoduje očuvanju i konzervaciji biološkog materijala što ide u prilog rezultatima ovog istraživanja.

Identifikacija prisutnih organizama na razini vrste nije bila moguća jer ona zahtjeva metodologiju (npr. mikroskopiranje) koja predstavlja zdravstveni rizik. Kvantitativna analiza nastalih organizama nije provedena jer bi takvo mjerjenje, ako bi se obavljalo za vrijeme eksperimenta, utjecalo na rezultate. Prijedlozi za moguće unaprjeđenje istraživanja su promatranje razgradnje svlaka više vrsta zmija gdje će se mijenjati samo jedan uvjet uz postojanje istovrsnih uzoraka. Moguće je i usporediti razgradnju svlaka Hrvatske i strane zmije u zemlji uzorkovanoj na prirodnom staništu pojedine zmije. Također, može se promatrati utjecaj drugih uvjeta na razgradnju svlaka kao što su temperatura i količina svjetlosti.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja može se zaključiti:

- ➊ Svlak arborealne zmije *Boiga dendrophila* brže i jače se razgrađuje od svlaka terestričke zmije *Bitis arietans* bez obzira na uvjete u kojima se nalaze.



- Ⓐ Razgradnji svlaka arborealne zmije *Boiga dendrophila* pogoduju vlažni uvjeti.
- Ⓑ Razgradnji svlaka terestričke zmije *Bitis arietans* pogoduju suhi uvjeti.
- Ⓒ Ne možemo s dovoljnom sigurnošću utvrditi da neutralna vlažna zemlja više pogoduju razvitku saprofitnih mikroorganizama od blago kisele suhe zemlje.
- Ⓓ U sterilnim uvjetima bez zemlje ne dolazi do razgradnje zmijskog svlaka.

LITERATURA

- Brehm A. E. 2003. Život životinja, Prosvjeta, Zagreb.
- Carpenter C. E., Broadbent J. R. 2009. External Concentration of Organic Acid Anions and pH: Key Independent Variables for Studying How Organic Acids Inhibit Growth of Bacteria in Mildly Acidic Foods. *Journal of Food Science* 74(1): R12-R15.
- de Rooij N. 1915. The Reptiles of the Indo-Australian Archipelago. II. Ophidia. Leiden.
- Dolenec Z., Rusak G. 2013. Život životinja 2, Profil, Zagreb.
- Duraković S., Redžepović S. 2002. Uvod u opću mikrobiologiju. Kugler, Zagreb.
- Gregov K. 2017. Utjecaj veličine kaveza na kemoosjetljivo traženje i aktivnost nakon predatorskog ugriza u zmije siktalice (*Bitis arietans*, MERREM, 1820). Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, PMF Biološki odsjek. <https://repozitorij.pmf.unizg.hr/islandora/object/pmf%3A600/datasream/PDF/view>, pristupljeno 14.1.2019.
- Itoh T., Xia J., Magavi R., Nishihata T., Rytting J. H. 1990. Pharmaceutical Research, Use of Shed Snake Skin as a Model Membrane for in Vitro Percutaneous Penetration Studies: Comparison with Human Skin. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1015943200982>, pristupljeno 19.12.2018.
- Kibblewhite M., Tóth G., Hermann T. 2015. Predicting the preservation of cultural artefacts and buried materials in soil. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969715004854>, pristupljeno 6.3.2019.
- Kubartová A., Ranger J., Berthelin J., Beguiristain T. 2009. Diversity and Decomposing Ability of Saprophytic Fungi from Temperate Forest Litter. *Microbial Ecology* 58: 98-107.
- McDiarmid R. W., Campbell J. A., Touré T. 1999. *Snake Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*, Volume 1. Herpetologists' League, Washington (D.C.).
- Nester E. W., Anderson D. G., Roberts C. E. Jr., Pearsall N. N., Nester M. T. 2004. *Microbiology: A Human Perspective*, 4th ed., The McGraw-Hill Companies, New York.
- Oršolić R. 2013. Utjecaj temperature i hranjive podloge na razvoj nekih saprofitnih gljiva. Završni rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Poljoprivredni fakultet, Osijek.
- Pommerville J. C. 2007. *Fundamentals of microbiology*, 7th ed. Jones i Bartlett Learning, Burlington.
- Setala H., McLean M. A. 2004. Decomposition Rate of Organic Substrates in Relation to the Species Diversity of Soil Saprophytic Fungi. *Oecologia* 139: 98-107.
- Taiz L., Zeiger E. 2002. *Plant Physiology: Mineral Nutrition*, Sinauer Associates Inc., U.S.A.



PRETILOST – MOŽEMO LI OKRIVITI JEZIČNE PAPILE?

Sara Cesar, 3. razred
Mirta Sedlar, 3. razred

Prva gimnazija Varaždin, Varaždin

Mentor: Lovorka Kučak

SAŽETAK

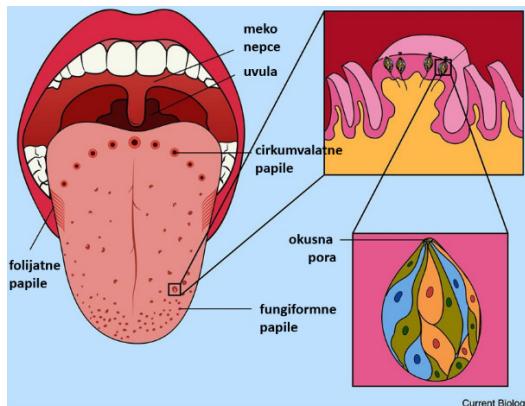
Istraživanjem se nastojalo utvrditi postoji li povezanost između broja fungiformnih papila jezika i indeksa tjelesne mase adolescenata. U istraživanju je sudjelovalo 249 učenika Prve gimnazije Varaždin, od kojih je 174 učenika ženskog spola, a 75 muškog spola. Učenici su grupirani po spolu i po kategorijama indeksa tjelesne mase za djecu i adolescente (pothranjenost, normalna uhranjenost, preuhranjenost i debljina) te prema broju fungiformnih papila u kategorije nekušača ($N < 15$), kušača ($N = 15 – 30$) i superkušača ($N > 30$). Metodom bojenja jezika površine 1 cm^2 prehrambenom bojom, fotografiranjem jezika kamerom mobitela modela *iPhone 8* te obradom prikupljenih podataka, zaključeno je da ne postoji statistički značajna povezanost između indeksa tjelesne mase i broja fungiformnih papila u oba spola. Utvrđene su razlike prema spolu sudionika, djevojke imaju prosječno veći broj fungiformnih papila u svim kategorijama indeksa tjelesne mase. U većini kategorija ITM-a kod djevojaka i mladića zastupljeni su nekušači, kušači i superkušači.

Ključne riječi: fungiformne papile; indeks tjelesne mase; nekušači;kušači; superkušači

UVOD

Jezik je mišićni organ koji sudjeluje u artikulaciji glasa, miješanju i drobljenju hrane te je odgovoran za osjet okusa. Osjet okusa stimuliraju hranjive tvari ili drugi kemijski spojevi koji aktiviraju specijalizirane receptorske stanice na jeziku ili u usnoj šupljini (Guyton i Hall, 2006). Osjet okusa nam pomaže odlučiti koje ćemo namirnice odabrati za svakodnevnu ishranu i koliko učinkovito ćemo probaviti odabrane namirnice. Osjet okusa u velikoj je mjeri oblikovan ekološkim nišama naših evolucijskih predaka i hranjivim tvarima kojima su se hranili. Rani hominoidi tražili su hranu u okruženju tropskih šuma, birajući uglavnom voće i lišće, a rani hominidi nastanili su savane i uvelike proširili svoj prehrambeni repertoar. Koristili su osjet okusa kako bi prepoznali hranjive namirnice. Loš odabir hrane ne uzrokuje samo nedovoljan unos energije i metabolički nedostatak hranjivih tvari zbog konzumiranja hrane s niskim sadržajem hranjivih tvari i energije, već omogućava unos potencijalno štetnih i smrtonosnih toksina. Razvijeno osjetilo okusa i danas je korisno velikom dijelu ljudske populacije koja živi u izrazito siromašnim zemljama, pomažući im da identificiraju hranjive tvari u prirodi. U razvijenim zemljama, gdje je ukusna, energetski bogata hrana dostupna na svakom koraku, naša osjetljivost na slatku, slanu i masnu hranu potakla je razvoj bolesti povezanih s prehranom, kao što su pretilost i dijabetes (Breslin, 2013).

Iako je istraživanjima utvrđeno najmanje 13 tipova kemijskih receptora na okusnim stanicama, receptori su grupirani u pet skupina primarnih osjeta okusa – slatko, slano, kiselo, gorko i umami. Za određeni tip okusa odgovorni su okusni populjci koji se sastoje od okusnih stanica, a smješteni su na okusnim papilama (slika 1). U prosjeku ljudski jezik odrasle osobe ima od 3 000 do 10 000 okusnih populjaka. Razlikujemo tri vrste okusnih papila: fungiformne, cirkumvalatne i folijatne (Guyton i Hall, 2006).



Slika 1. Prikaz smještaja i građe fungiformnih papila (izvor: Breslin, 2013)

Okus gorkog se od davnina koristi za detekciju otrova ili tvari koje u manjoj koncentraciji djeluju lijekovito (Markam i sur. 2015). Receptorske stanice za gorko nalaze se u osjetnim populjcima fungiformnih papila čija je gustoća najveća na vrhu jezika a smanjuje se prema korijenu jezika. Osobe muškog spola imaju manji broj fungiformnih papila na površini jezika u odnosu na osobe ženskog spola (Bartoshuk i sur., 1994), što rezultira većom osjetljivošću osoba ženskog spola na okuse, posebice na okus gorkog (Boyd i Boyd, 1937).

Na temelju osjeta gorkog ljudi je moguće podijeliti na superkušače, kušače i nekušače (Bartoshuk i sur., 1994). Superkušači imaju velik broj fungiformnih papila, više od 30 na 1 cm^2 , osjetljiviji su na različite okuse i izbirljiviji u odabiru hrane. Izbjegavaju gorku, slatku te izrazito začinjenu hranu. Kušači imaju između 15 i 30 fungiformnih papila na 1 cm^2 , a nekušači manje od 15 fungiformnih papila po cm^2 . Nekušači nisu toliko izbirljivi u odabiru hrane. Štoviše, nekušači slabije osjećaju okuse, više začinjavaju hranu te preferiraju hranu bogatu mastima i hranu s višim udjelom šećera (DiCarlo i sur., 1998; Miller i sur., 1990).

Jedan od vodećih svjetskih problema je povećanje broja pretilih ljudi u ljudskoj populaciji, među kojima je i sve više djece i mladih. Zbog sve učestalijeg korištenja tehnologije, djeca se u slobodno vrijeme sve manje kreću i bave tjelesnom aktivnošću. Jednako tako problemu doprinosi i manjak sna i ishrana kojom se unosi velika količina energije u organizam, a potrošnja energije je sve manja (Hruby i Hu, 2015). Istraživanjima je utvrđeno da je 2005. godine 33% odrasle ljudske populacije bilo pretilo, a ako se trend rasta nastavi, do 2030. godine 57,8% odrasle populacije će imati prekomjernu tjelesnu masu ili će biti pretilo (Kelly i sur., 2008). Sličan trend pokazuju i rezultati istraživanja zastupljenosti preuhranjenosti i pretilosti kod djece, u razdoblju od 1975. do 2016. godine postotak preuhranjene i pretile djece povećao se s 4% na 18% (WHO, 2018). Hrvatska također spada u zemlje sa sve većom učestalošću pretilosti u djece, a gotovo četvrtina školske djece u Hrvatskoj ima prekomjernu tjelesnu težinu. Prema Hrvatskom zdravstveno-statističkom ljetopisu (2010), 2010. godine provedeno je istraživanje tjelesne mase školske djece na području Grada Zagreba, u dobi od 7 do 15 godina. Prema ovom istraživanju, 29,8% djece imalo je prekomjernu tjelesnu masu, 9,2% bilo je pretilo, a 0,4% ekstremno pretilo. Analizom podataka o stanju uhranjenosti dobivenih tijekom sistematskih pregleda školske djece u dobi od 7 do 14 godina, a koji su rađeni u razdoblju od 2005. do 2010. godine, uočen je trend porasta pretilosti te se očekuje da će u budućnosti učestalost pretilosti u djece i adolescenata i dalje rasti.



Jesu li samo loše životne navike odgovorne za problem pretilosti? Koliko osjet okusa utječe na odabir namirnica u svakodnevnoj ishrani, a time na pojavu pretilosti? Cilj ovog istraživanja je utvrditi postoji li povezanost između broja fungiformnih papila jezika i indeksa tjelesne mase adolescenata te utječe li spol sudionika na dobivene rezultate. Pretpostavlja se da će sudionici s većim indeksom tjelesne mase imati manje fungiformnih papila na jeziku, a sudionici s manjim indeksom tjelesne mase imat će veći broj fungiformnih papila. Djekočice će u svakoj kategoriji indeksa tjelesne mase imati veći broj fungiformnih papila u odnosu na mladiće, a više će djekočaka biti grupirano u kategorije s nižim vrijednostima indeksa tjelesne mase u odnosu na mladiće.

METODE RADA

U istraživanju su sudjelovali učenici srednje škole u dobi od 15 do 18 godina. Ukupno je sudjelovalo 249 učenika, 75 muškog spola i 174 ženskog spola. Rasподjela sudionika prema spolu odražava školski omjer, školu pohađa više djekočaka u odnosu na mladiće. Učenici obuhvaćeni istraživanjem su u potpunosti zdravi što su potvrdili roditeljskim potpisom.

Priprema fungiformnih papila za fotografiranje

Svakom je učeniku na prednji dio jezika naneseno 4 kapi plave prehrambene boje kako bi se jezik obojao i postigao kontrast između fungiformnih papila i epitela jezika (Miller i sur., 1990). Učenici su isprali usnu šupljinu vodovodnom vodom kako bi se uklonio višak boje, čistom papirnatom maramicom osušeno je obojeno područje jezika i stavljen je papirnat kalup oblika kvadrata, površine 1 cm^2 . Kalup je obilježen šifrom (slika 1), a površina jezika fotografirana je kamerom pametnog telefona modela iPhone 8. Voditeljice istraživanja zaštitile su ruke rukavicama kako bi se izbjegao kontakt jezika sudionika i kože voditeljica.



Slika 2. Prikaz evidentiranja broja fungiformnih papila
(foto: Cesar, 2019)



Slika 3. Prikaz brojanja fungiformnih papila
(foto: Cesar, 2019)

Analiza fotografije

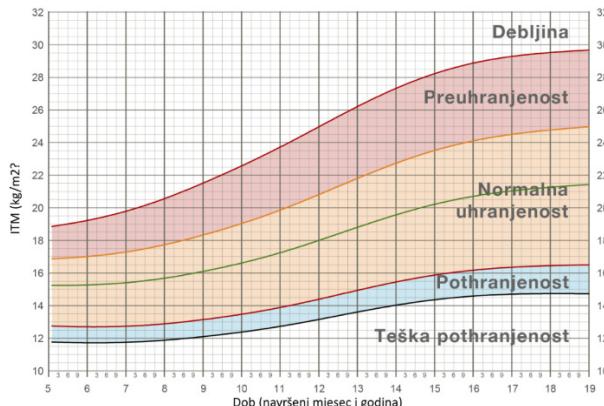
Fungiformne papile najbrojnije su i najveće papile na jeziku. Nanošenjem plave prehrambene boje intenzivno se oboji čitava površina jezika, a fungiformne papile, koje su i nakon bojenja ružičaste ili se oboje svijetlijom plavom bojom, jasno se ističu na jeziku (Miller i sur., 1990). Njihov broj na površini do 1 cm^2 izmjerena je pomoću programa Microsoft Paint, verzija 1803, integriranim u operativni sustav Windows 8. Papile su obilježene crvenom točkom kako bi se povećala točnost prebrojavanja. Voditeljice istraživanja su svaku fotografiju samostalno analizirale, rezultati su uspoređeni kako bi se, ukoliko vrijednosti odstupaju, prebrojavanje ponovilo.

Indeks tjelesne mase

Indeks tjelesne mase (ITM) je omjer mase i kvadrata visine osobe i koristi se kao kriterij u kategorizaciji pretilosti (Hruby i Hu, 2015). Usko je povezan s količinom masnog tkiva u ljudskom tijelu, no njime se ne može stvarno prikazati postotak masnog tkiva u odnosu na mišićnu ili koštanu masu.



Kategorije ITM-a određene su prema online kalkulatoru <https://www.plivazdravlje.hr/zdravlje-online/bmi-za-djecu> (slika 4). Kategorije ITM-a za djecu i adolescente razlikuje se od kategorija za odrasle, ITM djece i adolescenata mjeri se percentilima odnosno iskazuje položaj pojedinca uzorku iste dobi i visine (De Onis i sur., 2007). Sudionici su u kalkulator unijeli vrijednosti svoje mase (kg) i visine (cm), dob (godine i mjeseci) i spol. Masu su izmjerili na kućnoj vagi preciznosti 0,1 kg, a građevinskim metrom su voditeljice istraživanja izmjerile njihovu visinu.



Slika 4. Prikaz kategorija indeksa tjelesne mase
(izvor: <https://www.plivazdravlje.hr/zdravlje-online/bmi-za-djecu>)

Kako je podatak o masi tijela emocionalno osjetljiv, posebice u adolescentskom razdoblju života, sudionici istraživanja nisu javno iznosili podatke o svojoj masi i indeksu tjelesne mase već su samostalno izračunali indeks pomoću online kalkulatora te vrijednost pod Šifrom zabilježili u upitnik. Takvim pristupom nastojalo se izbjegći nelagodu sudionika i potencijalno odustajanje od sudjelovanja u istraživanju, posebice sudionika veće tjelesne mase. Metodologijom istraživanja nastojala se osigurati anonimnost kako bi istraživanjem uključili što više sudionika i obuhvatili što više kategorija indeksa tjelesne mase.

Obrada rezultata

Podaci su prikazani tablično i izrađeni su grafovi u programu *Microsoft Office Excel 2007* sustava *Windows 8*. Kako bismo utvrdili postoji li statistička razlika u broju fungiformnih papila među kategorijama indeksa tjelesne mase (pothranjenost, normalna uhranjenost, preuhranjenost, debljina), izračunata je standardna devijacija te je primijenjen statistički test ANOVA u programu *Microsoft Office Excel 2007* sustava *Windows 8*. U programu *Google forms 2019* izrađen je upitnik koji su ispitanici popunili nakon bojenja i fotografiranja jezika. Upitnikom su prikupljeni podaci o indeksu tjelesne mase, i tjelesnoj aktivnosti ispitanika kako bi se omogućila objektivnija interpretacija dobivenih rezultata (prilog 1 i 2).

Suglasnost roditelja i zaštita podataka

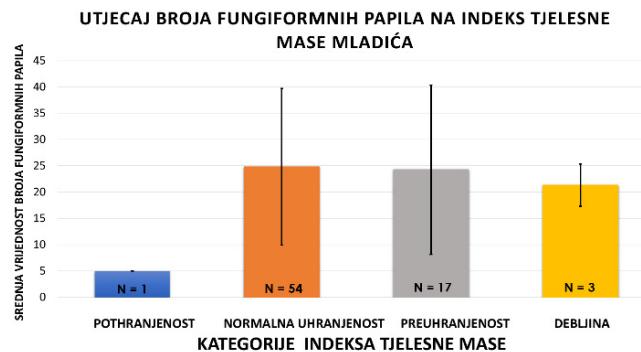
Roditelji ispitanika su svojim potpisom unaprijed pripremljenog obrasca dali suglasnost za sudjelovanje učenika u istraživanju. Suglasnost osigurava anonimnost i tajnost podataka koji će biti upotrijebljeni isključivo u svrhu ovog istraživanja.

REZULTATI

U istraživanju je ukupno sudjelovalo 249 učenika, 174 djevojaka i 75 mladića. Skupini pothranjenih mladića pripadao je samo jedan učenik, kojem je prebrojano 5 fungiformnih papila, a s obzirom da je uzorak bio sveden na jednu osobu, nije bilo moguće izračunati standardnu devijaciju za skupinu

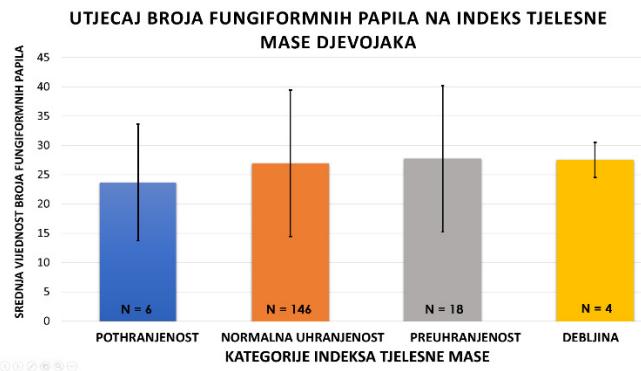


pothranjenih mladića. U preostalim skupinama broj sudionika je bio znatno veći, a srednje vrijednosti broja fungiformnih papila nisu prelazile 25. U kategoriji normalne uhranjenosti mladića ($N = 54$), srednja vrijednost broja fungiformnih papila iznosi 24,81, a vrijednost standardne devijacije iznosi 14,89. U kategoriji preuhranjenih mladića ($N = 17$), srednja vrijednost broja fungiformnih papila je 24,28, a standardna devijacija iznosi 16,11. U kategoriji debljina ($N = 3$), srednja vrijednost broja fungiformnih papila iznosi 21,33, a vrijednost standardne devijacije iznosi 4,04 (slika 5).



Slika 5. Brojnost fungiformnih papila po kategorijama indeksa tjelesne mase kod mladića (stupac pogreške iznosi +/-1 STDEV)

U kategorijama normalna uhranjenost i preuhranjenost kod mladića, zastupljeni su nekušači, kušači i superkušači, u kategoriji pothranjeni zabilježeni su nekušači, a kategoriji debljina kušači (prilog 2). U skupini pothranjenih djevojaka ($N = 6$), srednja vrijednost broja fungiformnih papila iznosi 23,67, a standardna devijacija iznosi 9,93. U kategoriji normalne uhranjenosti djevojaka ($N = 146$), srednja vrijednost broja fungiformnih papila iznosi 26,94, a vrijednost standardne devijacije 12,47. U kategoriji preuhranjenih djevojaka ($N = 18$), srednja vrijednost broja fungiformnih papila iznosi 27,72, a vrijednost standardne devijacije iznosi 12,48. Srednja vrijednost broja fungiformnih papila kategorije debljina za djevojke ($N = 4$) iznosi 27,50, a vrijednost standardne devijacije je 3,00 (slika 6).



Slika 6. Prikaz brojnosti fungiformnih papila po kategorijama indeksa tjelesne mase kod djevojaka (stupac pogreške prikazuje +/-1 STDEV)

p-vrijednost statističkog testa ANOVA kod mladića iznosi 0,10 (tablica 1), a kod djevojaka 1 (tablica 2). U svim kategorijama ITM kod djevojaka, osim kategorije debljina, zastupljeni su nekušači, kušači i superkušači. U kategoriji debljina nekušači nisu zabilježeni (prilog 1). Analizom rezultata dobivenih upitnikom utvrđeno je da je 73% djevojaka tjelesno aktivno izvan škole, od toga se 18% sudionica tjelesnom aktivnošću bavi svaki dan (prilog 1). U skupini mladića 91% sudionika je tjelesno aktivno



izvan škole, a 44% je tjelesno aktivno svaki dan (prilog 2). Ostali učenici su tjelesno su aktivni samo na satu predmeta Tjelesne i zdravstvene kulture.

Tablica 1. ANOVA statistički test rezultata prikupljenih od mladića (SS – sume kvadrata; df – stupnjevi slobode; MS – srednja vrijednost varijance; F – vrijednost; P – vrijednost; F – kritična vrijednost)

ANOVA						
Izvor varijabilnosti	SS	df	MS	F	P	F crit
Između grupe	474,26	11	43,11	0,17	0,10	1,95
Unutar grupe	15250,78	61	250,01			
Ukupno	15725,04	72				

Tablica 2. ANOVA statistički test rezultata prikupljenih od djevojaka (SS – sume kvadrata; df – stupnjevi slobode; MS – srednja vrijednost varijance; F – vrijednost; P – vrijednost; F – kritična vrijednost)

ANOVA						
Izvori varijabilnosti	SS	df	MS	F	P	F crit
Između grupe	77,59	11	7,05	0,04	1,00	1,85
Unutar grupe	25695,62	162	158,61			
Ukupno	25773,20	173				

RASPRAVA

Iz rezultata je vidljivo da smanjenje broja fungiformnih papila ne utječe na povećanje indeksa tjelesne mase te pojavu pretilosti kod adolescenata. Broj fungiformnih papila jezika na površini od 1 cm² po kategorijama indeksa tjelesne mase je veoma rasprošen i nije utvrđena povezanost s indeksom tjelesne mase. Srednje vrijednosti broja fungiformnih papila su veće kod sudionica ženskog spola u odnosu na sudionike muškog spola, dok je odstupanje od srednje vrijednosti manje kod sudionica ženskog spola, nego što je zabilježeno kod sudionika muškog spola. U obje skupine, odstupanja od srednje vrijednosti su najveća u kategorijama normalna uhranjenost i preuhranjenost. Vrijednosti standardnih devijacija po kategorijama ITM-a se preklapaju (slika 5 i 6) što ukazuje da ni kod djevojaka ni kod mladića nema statistički značajne razlike u broju fungiformnih papila po kategorijama ITM-a. To je i dokazano ANOVA statističkim testom, u kojem je p-vrijednost i kod djevojaka i kod mladića veća od 0,05, što ukazuje da se srednje vrijednosti broja fungiformnih papila različitim kategorija indeksa tjelesne mase statistički značajno ne razlikuju (prihvata se nulta hipoteza (H_0) statističkog testa, koja bi glasila da razlike među skupinama ne postoje). Rezultati istraživanja djelomično opovrgavaju našu hipotezu, ukazujući kako ITM ne ovisi o broju fungiformnih papila, no broj papila se razlikuje po spolu sudionika - kod djevojaka je zabilježen veći broj fungiformnih papila po svim kategorijama ITM-a u odnosu na mladiće. Jednak broj fungiformnih papila može se prebrojati kod ispitanika koji se nalaze u kategoriji debljina i sudionika koji se nalazi u kategoriji normalna uhranjenost. Učenici koji se često bave tjelesnom aktivnošću većinom su grupirani u kategoriju normalne uhranjenosti indeksa tjelesne mase. Učenici koje se ne bave tjelesnom aktivnošću ili ju obavljaju vrlo rijetko, zastupljeni su u svim kategorijama.

Dosadašnjim istraživanjima utvrđena je povezanost između broja fungiformnih papila i intenziteta osjeta gorko te je dokazano da se s porastom broja papila povećava intenzitet osjeta gorko (Bartoshuk i sur., 1994) a smanjuje unos hrane s višim udjelom šećera i masti (DiCarlo i sur., 1998; Miller i sur., 1990). Odabir hrane temeljen na osjetu okusa posljedično može utjecati na indeks tjelesne mase koji će se povećati ukoliko je broj papila malen, a bit će niži ukoliko pojedinac ima velik broj fungiformnih papila na jeziku. Markam i sur. (2015) su mjerili broj fungiformnih papila na jeziku djece predškolskog uzrasta te istražili utječe li percepcija okusa na indeks tjelesne mase djece. Prema broju fungiformnih



papila sudionike istraživanja su grupirali u kategorije nekušači, kušači i superkušači. Utvrdili su značajnu korelaciju između indeksa tjelesne mase i percepcije okusa, odnosno da je kod predškolske djece s povećanim brojem fungiformnih papila zabilježen smanjen indeks tjelesne mase. Prema broju fungiformnih papila sudionike istraživanja su grupirali u kategorije nekušači, kušači i superkušači. Većina nekušača, njih 73,30% indeksom tjelesne mase pripalo je kategoriji debljina (Markam i sur., 2015).

Velika odstupanja u broju fungiformnih papila posljedica su nepreciznog prebrojavanja fungiformnih papila uzrokovanih različitom teksturom jezika te vidljivošću fungiformnih papila na slici. Na vidljivost papila utjecala je kvaliteta slike koja je smanjena u uvjetima lošijeg osvjetljenja te razlike u vremenskom periodu ispiranja jezika koje nije bilo moguće preciznije kontrolirati. Na odstupanja u broju papila u pojedinoj kategoriji ITM-a mogao je utjecati i položaj kalupa na jeziku. Kalupi su smješteni na prednji kraj jezika no položaj im je bio različit zbog različitog intenziteta obojenja prednjeg dijela jezika. Odabранo je područje najbolje vidljivosti papila. Kako bi se izbjegle pogreške u prebrojavanju i velika raspršenost rezultata potrebno je usavršiti tehniku bojenja jezika, osušiti jezik prije i nakon bojenja te uskladiti tehniku ispiranja boje kod svih sudionika, a kalup smjestiti na precizno definirano područje jezika. Također, potrebno je unaprijediti tehniku fotografiranja, koristiti profesionalnu kameru s visokom rezolucijom te stativ kako bi se povećala kvaliteta slike. Kvaliteta slike utjecala je na metodu prebrojavanja papila, porastom kvalitete biti će moguće koristiti naprednije programe pri obradi poput ImageJ2 2009 programa te na taj način umanjiti utjecaj ljudske pogreške na dobivene rezultate. Prilikom prikupljanja podataka, kako bi se motiviralo što više učenika na sudjelovanje u istraživanju, posebice učenika niskog i visokog ITM-a, omogućeno je učenicima da sami izmjere svoju masu na kućnoj vagi i podatke iskoriste za računanje ITM-a. Učenici su vrijednosti ITM-a pod šifrom unosili u upitnik, kako ne bi javno iznosili podatke o svojoj masi i ITM-u. Opisana metoda mogući je izvor pogrešaka, jer nije bilo moguće kontrolirati vrijednosti koje su učenici unosili u kalkulator i u upitnik pa je pri sljedećem istraživanju potrebno nadzirati sve korake istraživanja. Iako je istraživanje provedeno na velikom uzorku, u pojedinim kategorijama ITM-a broj sudionika je nedostatan za kvalitetnu analizu. Potrebno je uključiti više sudionika s niskim i visokim ITM-om, posebice u kategorije pothranjenost, preuhranjenost i debljina. Analizom učestalosti bavljenja tjelesnom aktivnošću utvrđeno je da su sudionici istraživanja na tjednoj razini različito tjelesno aktivni te je neusklađenost uzorka mogući uzrok smanjenja ITM-a kod ispitanika s manjim brojem fungiformnih papila i povećanjem ITM-a kod ispitanika s većim brojem fungiformnih papila. Istraživanjem nisu analizirani intenziteti različitih okusa niti zastupljenost namirnica s visokim udjelom masti i šećera u svakodnevnoj ishrani sudionika. Detaljnija analiza prehrambenih navika i osjeta okusa doprinijela bi kvaliteti istraživanja.

ZAKLJUČCI

Istraživanje je pokazalo:

- ➊ Nije utvrđena statistički značajna razlika između broja fungiformnih papila jezika i indeksa tjelesne mase djevojaka i mladića.
- ➋ Broj fungiformnih papila je izrazito raspršen, i kod djevojaka i kod mladića zabilježen je širok raspon vrijednosti u svim kategorijama ITM-a.
- ➌ Djevojke u prosjeku imaju veći broj fungiformnih papila po svim kategorijama indeksa tjelesne mase.



U većini kategorija ITM-a djevojaka i mladića zastupljeni su nekušači, kušači i superkušači.

Velik je utjecaj ograničavajućih čimbenika na kvalitetu prikupljenih rezultata, na što ukazuje raspršenost broja fungiformnih papila te zastupljenost kušača, nekušača i superkušača u većini kategorija ITM-a. Modifikacijom metodologije bojanja jezika i prikupljanja podataka o masi sudionika, metode fotografiranja jezika, uključivanjem većeg broja sudionika u svim kategorijama ITM-a te kontroliranjem tjelesne aktivnosti pri odabiru sudionika, prikupili bi se objektivniji podaci koji bi omogućili kvalitetniju statističku analizu prikupljenih podataka. Budućim istraživanjima potrebno je u obzir uzeti i sastav hrane kojom se svakodnevno hrane sudionici te osmislati metodologiju kojom će se testirati osjetila okusa koja utječu na unos hrane bogate energijom.

ZAHVALA

Zahvaljujemo se učenicima Prve gimnazije Varaždin što su se u tolikom broju uključili u istraživanje i profesorima biologije i kemije na logističkoj podršci tijekom provedbe istraživanja. Također zahvaljujemo profesorici Martini Vidović i profesoru Marku Šafranu na savjetima, pomoći i podršci u našem istraživanju. Hvala razrednici Ireni Hajsk i cijelom 3.a razredu što su nas podržali tijekom svih faza istraživanja.

LITERATURA

- Bartoshuk L. M., Duffy V. B., Miller I. J. 1994. PTC/PROP Tasting: Anatomy, Psychophysics, and Sex Effects. *Physiology and Behavior* 56: 1165-1171.
- Boyd W.C., Boyd L.G. 1937. Sexual and racial variations in ability to taste phenyl-thio-carbamide, with some data on the inheritance. *Annals of Eugenics London* 8: 46-51.
- Breslin P. A. S. 2013. An Evolutionary Perspective on Food Review and Human Taste. *Current Biology* 23: R409-R418.
- De Onis M., Onyango A. W., Borghi E., Siyam A., Nishida C., Siekmann J. 2007. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ* 85(9): 660-7.
- DiCarlo S. T., Powers A. S. 1998. Propylthiouracil Tasting as a Possible Genetic Association Marker for Two Types of Alcoholism. *Physiology and Behavior* 64: 147-152.
- Guyton A. C., Hall J. E. 2006. Medicinska fiziologija, 11. izdanje. str. 663. – 666.
- Hruby A., Hu F.B. 2015. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics* 33(7): 673-689.
- Hrvatski zavod za javno zdravstvo 2010. Hrvatski zdravstvenostatistički ljetopis za 2010. g. http://www.webcitation.org/query.php?url=http://www.hzjz.hr/publikacije/hzs_ljetopis/Ljetopis_Yearbook_HR_2010.pdf&refdoi=10.1186/1475-2875-11-s1-p135, pristupljeno 10.5.2019.
- Kelly T., Yang W., Chen C-S., Reynolds K., He J. 2008. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International Journal of Obesity* 32(9): 1431-1437.
- Markam, V., Banda, N. R., Singh, G., Chakravarthy, K., Gupta, M. 2015. Does Taste Perception Effect Body Mass Index in Preschool Children? *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR* 9(12): ZC01–ZC4.
- Miller Jr., Inglis J., Reedy F.E. 1990. Variations in human taste bud density and taste intensity perception. *Physiology & Behavior* 47(6): 1213-1219.
- WHO 2011. Data and analysis on overweight and obesity. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>, pristupljeno 10.5.2019.
- Pliva zdravje 2019. BMI kalkulator za djecu i adolescente. <https://www.plivazdravlje.hr/zdravlje-online/bmi-za-djecu>, pristupljeno 15.12.2019.

PRILOZI

Prilog 1. Broj fungiformnih papila djevojaka na površini 1 cm², ITM i kategorije indeksa tjelesne mase te učestalosti bavljenja tjelesnom aktivnosti

ŠIFRA UČENIKA	INDEKS TJELESNE MASE	KATEGORIJA	BROJ PAPILA	TJELESNA AKTIVNOST
32b	15,4	POTHRANJENA	21	svaki dan
42b	15,6	POTHRANJENA	38	TZK
12h	16,3	POTHRANJENO	24	skoro svaki dan
83f	16,4	POTHRANJENA	32	svaki dan
22e	16,5	POTHRANJENA	15	dvaput tjedno
273a	16,6	POTHRANJENA	12	TZK
113g	16,8	NORMALNA UHRANJENOST	14	dvaput tjedno
54d	17,0	NORMALNA UHRANJENOST	31	jedanput tjedno



Pretilost – možemo li okriviti jezične papile?

Mentor:
Kučak L.

ŠIFRA UČENIKA	INDEKS TJELESNE MASE	KATEGORIJA	BROJ PAPILA	TJELESNA AKTIVNOST
113e	17,0	NORMALNA UHRANJENOST	51	tri puta tjedno
83e	17,3	NORMALNA UHRANJENOST	49	TZK
114e	17,3	NORMALNA UHRANJENOST	42	dvaput tjedno
74a	17,3	NORMALNA UHRANJENOST	34	TZK
124e	17,4	NORMALNA UHRANJENOST	23	dvaput tjedno
14a	17,5	NORMALNA UHRANJENOST	18	dvaput tjedno
22h	17,6	NORMALNA UHRANJENOST	25	jedanput tjedno
142f	17,6	NORMALNA UHRANJENOST	35	dvaput tjedno
124d	17,7	NORMALNA UHRANJENOST	18	jedanput tjedno
42f	17,8	NORMALNA UHRANJENOST	26	dvaput tjedno
192f	17,8	NORMALNA UHRANJENOST	32	3/4 puta tjedno
133h	18,0	NORMALNA UHRANJENOST	40	svaki dan
84d	18,3	NORMALNA UHRANJENOST	10	TZK
122f	18,3	NORMALNA UHRANJENOST	28	jedanput tjedno
43f	18,4	NORMALNA UHRANJENOST	34	triput tjedno
162c	18,4	NORMALNA UHRANJENOST	53	četiri puta tjedno
142c	18,4	NORMALNA UHRANJENOST	46	četiri puta tjedno
83c	18,4	NORMALNA UHRANJENOST	39	TZK
33h	18,4	NORMALNA UHRANJENOST	27	TZK
52b	18,4	NORMALNA UHRANJENOST	45	TZK
54h	18,4	NORMALNA UHRANJENOST	11	TZK
94h	18,4	NORMALNA UHRANJENOST	22	jedanput tjedno
52e	18,5	NORMALNA UHRANJENOST	26	dvaput tjedno
104d	18,6	NORMALNA UHRANJENOST	14	jedanput tjedno
272c	18,6	NORMALNA UHRANJENOST	35	TZK
183a	18,7	NORMALNA UHRANJENOST	21	dvaput tjedno
13c	18,7	NORMALNA UHRANJENOST	57	dvaput tjedno
82a	18,7	NORMALNA UHRANJENOST	25	svaki dan
113h	18,7	NORMALNA UHRANJENOST	24	dvaput tjedno
92b	18,7	NORMALNA UHRANJENOST	27	svaki dan
23g	18,8	NORMALNA UHRANJENOST	22	svaki dan
62e	19,1	NORMALNA UHRANJENOST	16	dvaput tjedno
202c	19,1	NORMALNA UHRANJENOST	31	jedanput tjedno
54c	19,1	NORMALNA UHRANJENOST	11	dvaput tjedno
172f	19,1	NORMALNA UHRANJENOST	37	četiri puta tjedno
102f	19,2	NORMALNA UHRANJENOST	22	TZK
82b	19,2	NORMALNA UHRANJENOST	18	svaki dan
134h	19,2	NORMALNA UHRANJENOST	15	jedanput tjedno
102b	19,3	NORMALNA UHRANJENOST	34	triput tjedno
34c	19,4	NORMALNA UHRANJENOST	20	jedanput tjedno
22a	19,4	NORMALNA UHRANJENOST	30	dvaput tjedno
64h	19,4	NORMALNA UHRANJENOST	10	tri puta tjedno
14f	19,5	NORMALNA UHRANJENOST	40	svaki dan
124f	19,5	NORMALNA UHRANJENOST	17	tri puta tjedno
53g	19,5	NORMALNA UHRANJENOST	49	svaki dan
14e	19,5	NORMALNA UHRANJENOST	17	jedanput tjedno
32f	19,5	NORMALNA UHRANJENOST	30	svaki dan
24a	19,5	NORMALNA UHRANJENOST	31	svaki dan
34a	19,5	NORMALNA UHRANJENOST	62	dvaput tjedno
24g	19,6	NORMALNA UHRANJENOST	18	svaki dan
132c	19,6	NORMALNA UHRANJENOST	21	TZK
154h	19,6	NORMALNA UHRANJENOST	16	jedanput tjedno
13d	19,8	NORMALNA UHRANJENOST	27	TZK
33c	19,8	NORMALNA UHRANJENOST	41	dvaput tjedno
62a	19,8	NORMALNA UHRANJENOST	21	četiri puta tjedno
102a	19,8	NORMALNA UHRANJENOST	30	triput tjedno
104h	19,8	NORMALNA UHRANJENOST	44	dvaput tjedno
144h	19,8	NORMALNA UHRANJENOST	31	TZK
172c	19,9	NORMALNA UHRANJENOST	34	TZK
92a	19,9	NORMALNA UHRANJENOST	23	TZK
132f	19,9	NORMALNA UHRANJENOST	23	jedanput tjedno
42h	20,0	NORMALNA UHRANJENOST	17	dvaput tjedno



Pretilost – možemo li okriviti jezične papile?

Mentor:
Kučak L.

ŠIFRA UČENIKA	INDEKS TJELESNE MASE	KATEGORIJA	BROJ PAPILA	TJELESNA AKTIVNOST
243a	20,0	NORMALNA UHRANJENOST	15	svaki dan
84f	20,0	NORMALNA UHRANJENOST	20	TZK
44e	20,0	NORMALNA UHRANJENOST	23	ne vježba uopće
64a	20,0	NORMALNA UHRANJENOST	33	dvaput tjedno
134g	20,1	NORMALNA UHRANJENOST	14	dvaput tjedno
203a	20,1	NORMALNA UHRANJENOST	50	svaki dan
63e	20,1	NORMALNA UHRANJENOST	26	dvaput tjedno
152f	20,2	NORMALNA UHRANJENOST	19	svaki dan
33d	20,4	NORMALNA UHRANJENOST	9	svaki dan
22b	20,4	NORMALNA UHRANJENOST	39	dvaput tjedno
72a	20,5	NORMALNA UHRANJENOST	50	TZK
34e	20,5	NORMALNA UHRANJENOST	19	jedanput tjedno
222c	20,6	NORMALNA UHRANJENOST	15	svaki dan
103a	20,6	NORMALNA UHRANJENOST	11	dvaput tjedno
13h	20,6	NORMALNA UHRANJENOST	15	dvaput tjedno
43a	20,7	NORMALNA UHRANJENOST	16	TZK
14c	20,7	NORMALNA UHRANJENOST	12	dvaput tjedno
43e	20,7	NORMALNA UHRANJENOST	22	TZK
62f	20,7	NORMALNA UHRANJENOST	19	TZK
14g	20,8	NORMALNA UHRANJENOST	15	TZK
94d	20,8	NORMALNA UHRANJENOST	18	3/4 puta tjedno
213h	20,9	NORMALNA UHRANJENOST	17	dvaput tjedno
24e	20,9	NORMALNA UHRANJENOST	26	dvaput tjedno
232c	21,0	NORMALNA UHRANJENOST	4	TZK
53c	21,0	NORMALNA UHRANJENOST	29	svaki dan
74f	21,0	NORMALNA UHRANJENOST	28	dvaput tjedno
164h	21,2	NORMALNA UHRANJENOST	31	jedanput tjedno
23c	21,3	NORMALNA UHRANJENOST	46	pet puta tjedno
182f	21,3	NORMALNA UHRANJENOST	68	dvaput tjedno
72b	21,3	NORMALNA UHRANJENOST	35	jedanput tjedno
74d	21,4	NORMALNA UHRANJENOST	25	TZK
123e	21,4	NORMALNA UHRANJENOST	32	TZK
123c	21,5	NORMALNA UHRANJENOST	47	TZK
32a	21,5	NORMALNA UHRANJENOST	14	dvaput tjedno
163a	21,6	NORMALNA UHRANJENOST	21	dvaput tjedno
153a	21,6	NORMALNA UHRANJENOST	13	svaki dan
153e	21,6	NORMALNA UHRANJENOST	25	svaki dan
123h	21,6	NORMALNA UHRANJENOST	12	TZK
82c	21,7	NORMALNA UHRANJENOST	15	jedanput tjedno
143h	21,7	NORMALNA UHRANJENOST	34	dvaput tjedno
54a	21,7	NORMALNA UHRANJENOST	25	svaki dan
24d	22,0	NORMALNA UHRANJENOST	12	jedanput tjedno
32h	22,0	NORMALNA UHRANJENOST	22	svaki dan
153h	22,0	NORMALNA UHRANJENOST	16	svaki dan (20 min)
92f	22,0	NORMALNA UHRANJENOST	18	dvaput tjedno
12b	22,0	NORMALNA UHRANJENOST	51	dvaput tjedno
73a	22,1	NORMALNA UHRANJENOST	19	TZK
173h	22,1	NORMALNA UHRANJENOST	19	TZK
53a	22,3	NORMALNA UHRANJENOST	15	svaki dan
93h	22,3	NORMALNA UHRANJENOST	20	TZK
63g	22,4	NORMALNA UHRANJENOST	14	svaki dan
54e	22,5	NORMALNA UHRANJENOST	18	TZK
162f	22,6	NORMALNA UHRANJENOST	57	svaki dan
23e	22,7	NORMALNA UHRANJENOST	37	dvaput tjedno
23h	22,7	NORMALNA UHRANJENOST	17	TZK
74e	22,7	NORMALNA UHRANJENOST	26	TZK
52f	22,7	NORMALNA UHRANJENOST	51	svaki dan
63c	22,8	NORMALNA UHRANJENOST	16	TZK
52a	22,8	NORMALNA UHRANJENOST	16	svaki dan
73g	22,9	NORMALNA UHRANJENOST	25	TZK
53d	23,0	NORMALNA UHRANJENOST	42	svaki dan
42e	23,1	NORMALNA UHRANJENOST	24	samo TZK



Pretilost – možemo li okriviti jezične papile?

Mentor:
Kučak L.

ŠIFRA UČENIKA	INDEKS TJELESNE MASE	KATEGORIJA	BROJ PAPILA	TJELESNA AKTIVNOST
143e	23,0	NORMALNA UHRANJENOST	19	svaki dan
12c	23,1	NORMALNA UHRANJENOST	26	dvaput tjedno
43c	23,1	NORMALNA UHRANJENOST	38	dvaput tjedno
33e	23,1	NORMALNA UHRANJENOST	16	TZK
173e	23,2	NORMALNA UHRANJENOST	31	jednom tjedno
24f	23,2	NORMALNA UHRANJENOST	25	dvaput tjedno
53h	23,2	NORMALNA UHRANJENOST	16	TZK
24h	23,3	NORMALNA UHRANJENOST	11	dvaput tjedno
113a	23,4	NORMALNA UHRANJENOST	15	samo TZK
63h	23,4	NORMALNA UHRANJENOST	42	jedanput tjedno
183h	23,4	NORMALNA UHRANJENOST	33	dvaput tjedno (20 min)
64e	23,5	NORMALNA UHRANJENOST	20	dvaput tjedno
23d	23,7	NORMALNA UHRANJENOST	11	svaki drugi dan
34h	23,7	NORMALNA UHRANJENOST	20	svaki dan
43d	23,8	NORMALNA UHRANJENOST	26	3/4 puta tjedno
133e	23,8	NORMALNA UHRANJENOST	37	dva puta tjedno
143a	23,9	NORMALNA UHRANJENOST	44	samo TZK
42a	24,1	NORMALNA UHRANJENOST	15	jednom tjedno
112f	24,2	PREUHRANJENOST	36	jednom tjedno
44a	24,2	NORMALNA UHRANJENOST	29	TZK
74h	24,9	PREUHRANJENOST	21	jedanput tjedno
233h	24,5	NORMALNA UHRANJENOST	24	TZK
43g	24,7	PREUHRANJENOST	31	dvaput tjedno
33f	24,9	PREUHRANJENOST	32	tri puta tjedno
103e	24,9	PREUHRANJENOST	45	jedanput tjedno
53e	25,1	PREUHRANJENOST	50	tri puta tjedno
84e	25,3	PREUHRANJENOST	34	jedanput tjedno
102c	25,6	PREUHRANJENOST	19	TZK
104f	25,9	PREUHRANJENOST	18	tri puta tjedno
33g	26,0	PREUHRANJENOST	24	dvaput tjedno
104e	26,0	PREUHRANJENOST	9	četiri puta tjedno
103c	26,3	PREUHRANJENOST	47	svaki dan
133c	26,3	PREUHRANJENOST	41	dvaput tjedno
33a	26,7	PREUHRANJENOST	12	samo TZK
54f	27,1	PREUHRANJENOST	14	dvaput tjedno
44c	27,2	PREUHRANJENOST	28	jedanput tjedno
63f	28,4	PREUHRANJENOST	18	TZK
72c	28,7	PREUHRANJENOST	20	TZK
93c	29,4	DEBLJINA	30	svaki dan
73c	30,1	DEBLJINA	26	dvaput tjedno
53f	31,7	DEBLJINA	30	dvaput tjedno (30 min)
203h	33,7	DEBLJINA	24	dvaput tjedno

Prilog 2. Broj fungiformnih papila mladića na površini od 1 cm², ITM i kategorije indeksa tjelesne mase te učestalost bavljenja tjelesnom aktivnošću

ŠIFRA UČENIKA	INDEKS TJELESNE MASE	KATEGORIJA	BROJ PAPILA	TJELESNA AKTIVNOST
64d	18,0	POTHRANJENA	5	dvaput tjedno
42c	18,1	NORMALNA UHRANJENOST	18	dvaput tjedno
22f	18,5	NORMALNA UHRANJENOST	33	svaki dan
123a	18,6	NORMALNA UHRANJENOST	12	svaki dan
124h	18,9	NORMALNA UHRANJENOST	30	TZK
52c	19,1	NORMALNA UHRANJENOST	32	dvaput tjedno
64f	19,3	NORMALNA UHRANJENOST	43	dvaput tjedno
13g	19,7	NORMALNA UHRANJENOST	22	četiri puta tjedno
34d	19,9	NORMALNA UHRANJENOST	28	jedanput tjedno
83a	20,0	NORMALNA UHRANJENOST	13	dvaput tjedno
94a	20,0	NORMALNA UHRANJENOST	23	jedanput tjedno
114g	20,1	NORMALNA UHRANJENOST	18	svaki dan
114d	20,2	NORMALNA UHRANJENOST	20	TZK
34f	20,8	NORMALNA UHRANJENOST	33	jedanput tjedno
163c	21,2	NORMALNA UHRANJENOST	14	dvaput tjedno



Pretilost – možemo li okriviti jezične papile?

Mentor:
Kučak L.

ŠIFRA UČENIKA	INDEKS TJELESNE MASE	KATEGORIJA	BROJ PAPILA	TJELESNA AKTIVNOST
83g	21,4	NORMALNA UHRANJENOST	41	jedanput tjedno
262c	21,5	NORMALNA UHRANJENOST	15	3 ili više
93g	21,5	NORMALNA UHRANJENOST	28	jedanput tjedno
114f	21,6	NORMALNA UHRANJENOST	38	svaki dan
82f	21,6	NORMALNA UHRANJENOST	40	TZK
73h	21,8	NORMALNA UHRANJENOST	9	jedanput tjedno
64g	22,2	NORMALNA UHRANJENOST	19	svaki dan
84a	22,2	NORMALNA UHRANJENOST	42	svaki dan
34g	22,4	NORMALNA UHRANJENOST	17	svaki dan
63d	22,4	NORMALNA UHRANJENOST	23	svaki dan
32c	22,4	NORMALNA UHRANJENOST	4	dvaput tjedno
23f	22,5	NORMALNA UHRANJENOST	12	triput tjedno
242c	22,5	NORMALNA UHRANJENOST	22	svaki dan
154g	22,9	NORMALNA UHRANJENOST	8	4/5 puta tjedno
73d	22,9	NORMALNA UHRANJENOST	4	svaki dan
13f	23,0	NORMALNA UHRANJENOST	13	svaki dan
12a	23,0	NORMALNA UHRANJENOST	32	pet puta tjedno
12f	23,0	NORMALNA UHRANJENOST	69	svaki dan
212c	23,2	NORMALNA UHRANJENOST	25	TZK
233a	23,2	NORMALNA UHRANJENOST	24	dvaput tjedno
113c	23,2	NORMALNA UHRANJENOST	21	jedanput tjedno
44h	23,3	NORMALNA UHRANJENOST	68	svaki dan
174h	23,3	NORMALNA UHRANJENOST	8	svaki dan
84g	23,4	NORMALNA UHRANJENOST	14	svaki dan
83d	23,4	NORMALNA UHRANJENOST	35	svaki dan
144g	23,5	NORMALNA UHRANJENOST	12	svaki dan
44g	23,6	NORMALNA UHRANJENOST	39	svaki dan
32e	23,8	NORMALNA UHRANJENOST	61	svaki dan
74c	23,8	NORMALNA UHRANJENOST	19	svaki dan
152c	23,9	NORMALNA UHRANJENOST	9	svaki dan
64c	23,9	NORMALNA UHRANJENOST	45	svaki dan
103g	24,0	NORMALNA UHRANJENOST	32	TZK
24c	24,1	NORMALNA UHRANJENOST	18	četiri puta tjedno
22c	24,3	NORMALNA UHRANJENOST	25	dvaput tjedno
74g	24,4	NORMALNA UHRANJENOST	15	svaki dan
14d	24,8	NORMALNA UHRANJENOST	13	TZK
122c	24,8	PREUHRANJENOST	9	svaki dan
104g	24,9	NORMALNA UHRANJENOST	34	triput dnevno
62c	24,9	PREUHRANJENOST	4	svaki dan
13a	24,9	NORMALNA UHRANJENOST	8	dvaput tjedno
94f	24,9	NORMALNA UHRANJENOST	15	svaki dan
13e	25,0	PREUHRANJENOST	40	svaki dan
73e	25,0	PREUHRANJENOST	26	dvaput tjedno
263a	25,3	PREUHRANJENOST	10	3/4 puta tjedno
193h	25,3	PREUHRANJENOST	31	svaki dan
84h	25,4	PREUHRANJENOST	30	svaki dan
154f	25,6	PREUHRANJENOST	31	svaki dan
23a	25,7	PREUHRANJENOST	9	dvaput tjedno
12e	26,0	PREUHRANJENOST	38	dvaput tjedno
72f	26,0	PREUHRANJENOST	71	pet puta tjedno
163e	26,1	PREUHRANJENOST	17	triput tjedno
14h	26,6	PREUHRANJENOST	13	četiri puta tjedno
124g	26,9	PREUHRANJENOST	22	dvaput tjedno
43h	27,0	PREUHRANJENOST	8	šest puta tjedno
114h	27,2	PREUHRANJENOST	29	TZK
94g	27,7	PREUHRANJENOST	17	svaki dan
93e	28,0	PREUHRANJENOST	32	svaki dan
143c	29,4	DEBLJINA	26	dvaput tjedno
153c	30,4	DEBLJINA	19	jedanput tjedno
54g	31,0	DEBLJINA	19	dvaput tjedno



PROGRAMSKI ALAT ZA AUTOMATIZIRANO PREPOZNAVANJE AMBROZIJE NA FOTOGRAFIJAMA SNIMLJENIM U PRIRODNOM OKRUŽENJU

Ana Randić, 3. razred

Nina Randić, 3. razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: Romana Halapir Franković

SAŽETAK

Ambrozija je korovna i invazivna vrsta čija je pelud jak alergen pa se biljka mora uklanjati. Nestručnjacima na terenu njezino prepoznavanje otežavaju slične vrste kineski pelin i blago izmjenični dvozub. Ovo se istraživanje bavi izradom programskega alata za automatizirano prepoznavanje ambrozije i provjerom njegove uspješnosti. Cilj istraživanja je napraviti programski alat koji će s dovoljnom točnošću nestručnjacima omogućiti automatizirano prepoznavanje ambrozije nakon fotografiranja biljke na terenu. Za razvoj programskega alata izabrana je OpenCV open source biblioteka, a programi su pisani u programskom jeziku Python. Listovi navedenih triju vrsta prepoznaju se pomoću dvije metode: na temelju odabranih digitalnih morfoloških značajki i Fourierovih redova (deskriptora). Istraživanjem je definiran postupak fotografiranja i predobrade fotografija. Programski alat za prepoznavanje ambrozije je napravljen s 42% točnosti, a način upotrebe alata je opisan u radu.

Ključne riječi: programsko pomagalo; OpenCV; digitalne morfološke značajke; Fourierovi redovi

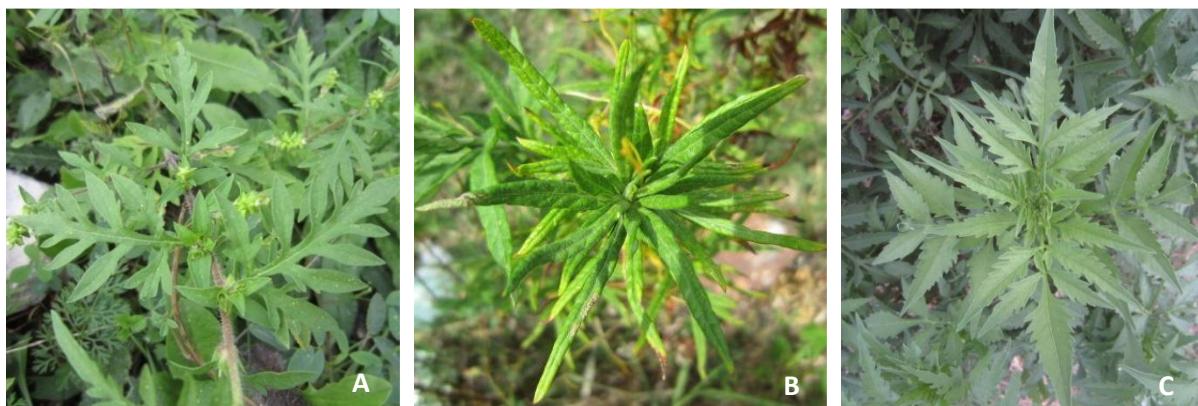
UVOD

Ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia* L.) je korovna i invazivna vrsta čiju pelud svrstavamo među najjače prirodne alergene. U Europi se zbog izvrsne prilagodljivosti uvjetima života drugačijim od onih u njezinom prirodnom području rasprostranjenja, brzo širi pa je broj alergičara svake godine sve veći (Radojčić, 2014). U Hrvatskoj, kao i u mnogim drugim državama postoji obveza organiziranog uklanjanja ambrozije posebno na površinama u blizini naselja. Njih često provodi veliki broj nestručnjaka za koje je determinacija biljaka na terenu vrlo zahtjevna i često rezultira krivom identifikacijom zbog postojanja sličnih vrsta. Na našim prostorima se ambrozija često zamjenjuje sa sličnim vrstama koje rastu na zajedničkim staništima (Kovačić i sur., 2008; Kesić, 2013). To su kineski pelin (*Artemisia verlotiorum* Lamotte) i blago izmjenični dvozub (*Bidens subalternans* DC.) koje su također invazivne vrste, ali nisu alergeni. Ambrozija je podrijetlom iz Sjeverne Amerike, kineski pelin iz Istočne Azije, a blago izmjenični dvozub iz Južne Amerike (slika 1) (Boršić i sur., 2014).

Na ovo istraživanje potaknula nas je spoznaja da se na terenu često uništavaju biljke koje nisu ambrozija jer se, posebno u periodu prije cvatnje, biljka ambrozije teško razlikuje od navedenih sličnih biljaka. Zbog toga bi postojala velika korist od programskega alata koji bi omogućavao radnicima na terenu da slikaju biljku pomoću mobilnog telefona, a nakon automatiziranog prepoznavanja, biljka bi se mogla uništiti.

Zahvaljujući razvoju računalnog vida (područje računarstva koje se bavi izdvajanjem korisnih informacija iz slika ili videa, te sustavima koji omogućavaju takvo izdvajanje), dostupnosti digitalnih fotoaparata, mobilnih telefona i mrežnih poslužitelja te postojanju naprednih tehnika obrade digitalnih fotografija ideja o automatiziranom prepoznavanju biljnih vrsta postaje stvarnost. Istraživanja na području automatiziranog prepoznavanja biljaka na fotografijama su danas vrlo intenzivna s brojnim rezultatima o čemu se može pročitati u preglednim radovima (Wäldche i Mäder,

2018; Wäldche i sur., 2018). Štoviše, uz pomoć bespilotnih letjelica i dronova, koji mogu uslikati velika područja, primjena automatiziranog prepoznavanja biljnih vrsta dobiva još veće značenje.



Slika 1. Listovi ambrozije (A), kineskog pelina (B) i blago izmjeničnog dvozuba (C) (fotografirala Randić A.)

Osnovni cilj ovog istraživanja je napraviti programski alat koji će s dovoljnom točnošću nestručnjacima omogućavati automatizirano prepoznavanje ambrozije. U ovoj početnoj istraživačkoj fazi alat želimo razviti za upotrebu na prijenosnom računalu uz pomoć Python programskega jezika, a u budućnosti bi se alat mogao prilagoditi za rad na mobilnom telefonu. U sklopu istraživanja želimo:

- ➊ Odabrati relevantne značajke (oblici pojedinih dijelova biljaka) na temelju kojih će se moći razlikovati slične biljke i izvoditi automatizirano prepoznavanje.
- ➋ Odrediti koji će biti odgovarajući način za fotografiranje biljaka i kakva je predobrada fotografija potrebna kako bi se došlo do skupa fotografija biljaka potrebnog za "učenje" te na kraju i za automatizirano prepoznavanje.
- ➌ Opisati način upotrebe alata i napraviti procjenu točnosti prepoznavanja.

Pretpostavka je da će naš programski alat na temelju različitih morfoloških karakteristika razlikovati spomenute tri vrste.

METODE RADA

Fotografije ambrozije i sličnih biljaka su snimane u prirodnim uvjetima (od kolovoza do listopada 2018.) na području grada Rijeke, a dio fotografija je prikupljen i s interneta. Determinacija biljaka je provedena uz pomoć ključa za determinaciju (Boršić i sur., 2014). Od tih fotografija pripremljena su dva skupa fotografija na kojima se nalaze biljke ambrozije, dvozuba i kineskog pelina. Prvi skup fotografija koji je korišten za "učenje" odnosno za izbor relevantnih značajki sastojao se od 50 fotografija svake vrste, a za procjenu točnosti prepoznavanja (vrednovanje programskega alata) korišten je manji skup od 20 fotografija svake vrste nazvan testni uzorak.

Za razvoj programskega alata izabrana je [OpenCV](#) open source biblioteka koja sadrži mnoštvo algoritama iz područja računalnog vida. Dostupna je za Windows, ali i za Android platforme za mobilne telefone te postoji mogućnost programiranja u programskom jeziku Python s kojim znamo raditi. Od mnogih OpenCV modula za Python, za pisanje programa koristili su se oni s funkcijama za obradu i transformaciju fotografija i pronalaženje kontura.

Izbor značajki na temelju kojih će se izvoditi automatizirano prepoznavanje

Stručnjaci - botaničari uobičajeno determiniraju biljne vrste na temelju sljedećih značajki: veličina i oblik cijele biljke, cvat (boja, veličina, oblik), stabljika (oblik, čvorovi, kora, dlakavost), plod (veličina,

boja, oblik) i listovi (oblik, rubovi, osjećaj na dodir, žile u listu), katkad na temelju mirisa te obilježja staništa (vrsta tla, izloženost suncu). Jasno je da većinu ovih značajki nije moguće iskoristiti prilikom automatiziranog strojnog prepoznavanja biljke koja je prikazana na nekoj fotografiji. Općenito, značajke na temelju kojih se može izvoditi automatizirano prepoznavanje biljaka što uključuje i eliminaciju sličnih vrsta jesu: oblik lista i cvata te boja cvata (Wäldche i Mäder, 2018). Cvjetovi ambrozije su skupljeni u cvatnim glavicama, a glavice su grupirane na vrhu stabljike u produžene klasove. Blago izmjenični dvozub ima cvat žute boje po čemu se razlikuje od ambrozije u vrijeme cvatnje. Plod ove biljke ima karakterističan kuglasti oblik roške. Oblici listova u ambrozije, blago izmjeničnog dvozuba i kineskog pelina su različiti. Biljka ambrozije ima jajolik oblik listova koji su duboko perasto razdijeljeni s karakterističnim suličastim odsjećcima. Listovi blago izmjeničnog dvozuba su prstenasto sastavljeni, s do četiri pari liski, a listovi kineskog pelina su jednostruko perasto razdijeljeni (Boršić, Mitić i Nikolić, 2014). Boja listova ambrozije se ne razlikuje u dovoljnoj mjeri od boje listova blago izmjeničnog dvozuba i kineskog pelina da bi se automatizirano prepoznavanje moglo temeljiti na boji. Uklanjanje ambrozije se provodi prije cvatnje, a time je i prepoznavanje moguće jedino prema obliku listova.

U programskom alatu korištene su dvije metode prepoznavanja: na temelju digitalnih morfoloških značajki i na temelju Fourierovih redova. Za računanje vrijednosti digitalnih morfoloških značajki i korištenje Fourierovih redova najbitnije je iz fotografije odrediti konturu lista. Do konture se dolazi predobradom fotografije za što je napisano originalno programsko rješenje. Također je osmišljen odgovarajući postupak fotografiranja listova kojim se dobivaju slike za koje će biti primjenjivo naše programsko rješenje. Postupci predobrade kao i prihvativ način fotografiranja lista za korištenje alata objašnjeni su u poglavljima Rezultati i Rasprava.

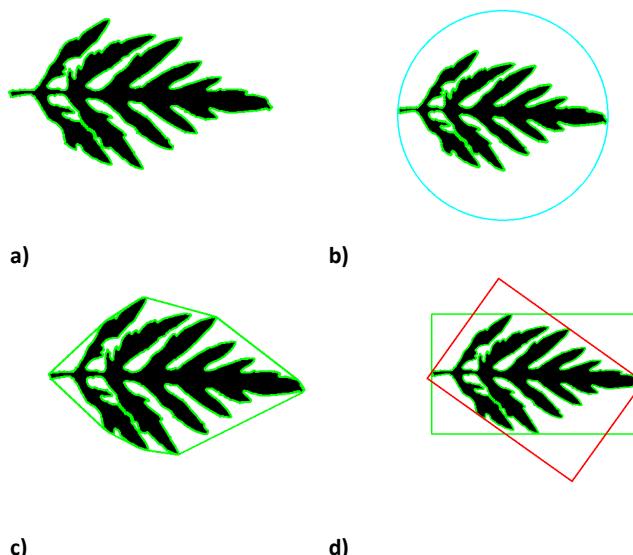
Digitalne morfološke značajke

Kod fotografiranja listova za očekivati je da će na slici objekti tj. listovi imati različite orijentacije i veličine. Općenito, za opisivanje značajki objekata na slici poželjni su parametri koji su nepromjenjivi - invarijantni pri pomaku (translaciji), promjeni veličine i rotaciji objekata (Russ, 2016). Vrijednosti digitalnih morfoloških značajki lista računamo na temelju šest osnovnih geometrijskih parametara konture lista kao što su opseg, površina, promjer i dr. koji su invarijantni na pomak i rotaciju, ali nisu invarijantni na promjenu veličine. Funkcije OpenCV (Contours in OpenCV, 2017) omogućavaju da vrlo jednostavno iz konture lista odredimo osnovne geometrijske parametre (Gang Wu i sur., 2007). Kontura lista je definirana kao skup 2D točaka (piksela) i predstavlja ulazni parametar za spomenute funkcije.

- 1) Opseg lista (oznaka O): Opseg je izračunat kao zbroj svih piksela koje sadrži kontura lista (slika 2 a)). Naredba koja u OpenCV-u računa opseg konture ili duljinu zakrivljene linije je:
 $opseg=cv2.arcLength(kontura,True)$.
- 2) Površina lista (oznaka A): Vrijednost površine lista je izračunata kao zbroj svih piksela u dijelu slike kojeg omeđuje kontura, a naredba je sljedeća:
 $površina = cv2.contourArea(kontura)$
- 3) Promjer (dijametar, oznaka d) lista: Promjer je definiran kao najveća udaljenost između bilo koje dvije točke na konturi lista. Predstavlja promjer najmanje kružnice koja opisuje list (slika 2 b)).
- 4) Površina kružnice koja opisuje list (oznaka A_k): Određena je najmanja kružnica u koji se može smjestiti kontura lista pomoću naredbe $(x,y),radius = cv2.minEnclosingCircle(kontura)$.

Funkcija računa koordinate središta kružnice i njezin radius koji je potreban za određivanje površine kružnice.

- 5) Najmanje konveksno područje lista (eng. convex hull, oznaka C): Najmanje konveksno područje lista se dobiva spajanjem najistaknutijih, susjednih točaka konture lista odnosno predstavlja najmanje konveksno područje koje sadržava list (slika 2 c)). Ono je određeno naredbom `konveksno_područje = cv2.convexHull(kontura)` koji ga definira kao konturu pa se njegova površina (oznaka A_C) i opseg (oznaka O_C) dobivaju jednako kao i kod konture lista.
- 6) Površina najmanjeg pravokutnika koji opisuje list (eng. minimum bounding rectangle, oznaka A_p): Određen je najmanji pravokutnik u koji se može smjestiti kontura lista pomoću naredbe `pravokutnik = cv2.minAreaRect(kontura)` te je izračunata njegova površina (slika 2 d)).

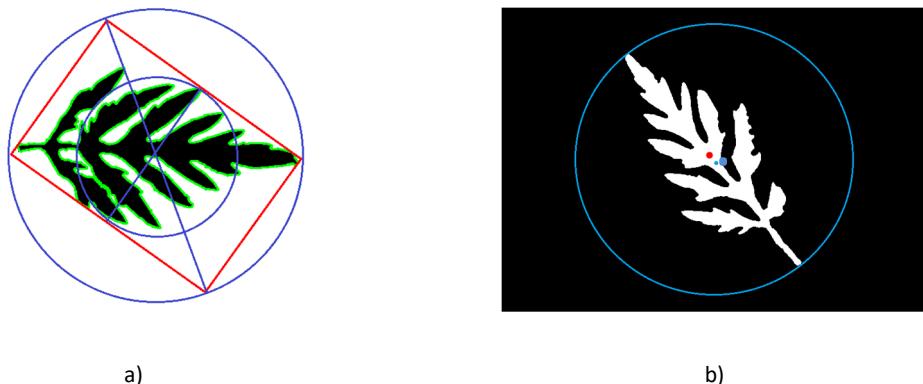


Slika 2. Osnovna geometrijska obilježja prikazana na listu ambrozije: (a) kontura lista, (b) kružnica koja opisuje list, (c) najmanje konveksno područje koje sadržava konturu lista, (d) minimalni pravokutnik koji opisuje konturu lista (crveni) i minimalni pravokutnik koji opisuje konturu lista postavljen paralelno s apscisom (zeleni)

Na temelju osnovnih geometrijskih parametara smo definirali osam digitalnih morfoloških značajki (Gang Wu i sur., 2007). To su bezdimenzionalni parametri koji imaju ranije navedena poželjna svojstva jer su njihove vrijednosti invariantne na pomicanje, promjenu veličine i rotaciju objekta (lista) na slici:

- 1) Faktor kružnosti predstavlja omjer površine lista i površine kružnice koja opisuje list. Izračunat je kao $\frac{A}{A_k}$, gdje je A površina lista, a A_k površina kružnice koja opisuje list. Ovaj parametar definira koliki dio površine opisane kružnice zauzima list.
- 2) Faktor pravokutnosti opisuje sličnost između oblika lista i pravokutnika. Definiran je kao $1 - \frac{A}{A_p}$, gdje je A površina lista, a A_p je površina najmanjeg pravokutnika koji opisuje konturu lista.
- 3) Gustoća opisuje odnos između površine lista i najmanjeg konveksnog područja lista. Određena je kao $\frac{A}{A_C}$, gdje je A površina lista, a A_C površina najmanjeg konveksnog područja.
- 4) Konveksnost opisuje odnos između opsega najmanjeg konveksnog područja i opsega konture lista. Određena je kao $\frac{O_C}{O}$, gdje je O_C opseg najmanjeg konveksnog područja lista, a O opseg konture lista.

- 5) Sfernost predstavlja omjer radiusa upisane i radiusa opisane kružnice najmanjeg pravokutnika u koji stane kontura lista (slika 3 a)).
- 6) Kompaktnost je određena kao $\frac{\sqrt{(\frac{4}{\pi})A}}{d}$, gdje je A površina lista, a d promjer lista odnosno promjer kružnice koja ga opisuje.
- 7) Omjer udaljenosti između središta listu opisane kružnice (geometrijski centar) i centra mase lista i radiusa kružnice određen je kao $\frac{\sqrt{(X_k - X_c)^2 + (Y_k - Y_c)^2}}{r}$, gdje su X_k i Y_k koordinate središta listu opisane kružnice, X_c i Y_c koordinate centra mase lista, a r radijus listu opisane kružnice. Parametar opisuje odstupanje geometrijskog centra od centra mase (slika 3 b)).
- 8) Omjer opsega i promjera lista je izračunat kao $\frac{O}{d}$, gdje je O opseg lista, a d promjer lista.



Slika 3. (a) sfernost predstavlja omjer radiusa upisane i radiusa opisane kružnice najmanjeg pravokutnika u koji stane kontura lista, (b) na slici su prikazane dvije točke unutar lista - središte opisane kružnice (plavo) i centar mase (crveno)

Vrijednosti svih digitalnih morfoloških značajki izračunate su za listove na svim fotografijama u skupu za učenje, a podaci su prebačeni u Excel tablicu i obrađeni metodom deskriptivne statistike kako bi se utvrdile relevantne značajke. Izračunate su maksimalna i minimalna vrijednost pojedine značajke te donji kvartil, medijan i gornji kvartil. Donji kvartil (prvi kvartil) je broj od kojeg je manje ili jednako 25% podataka, medijan (drugi kvartil) je broj od kojeg je manje ili jednako 50% podataka, a gornji kvartil je broj od kojeg je manje ili jednako 75% podataka. Značajke čije se statističke vrijednosti preklapaju s drugim značajkama nisu pogodne za prepoznavanje pa su te značajke odbačene kao nerelevantne (FKIT, 2019.).

Fourierovi redovi

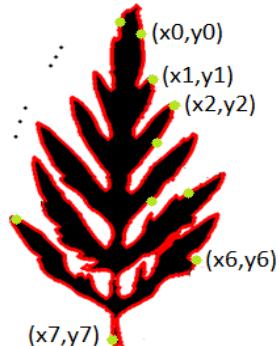
Druga metoda opisa konture temelji se na Fourierovim redovima (Russ, 2016). U OpenCV postoje Python funkcije za proračun članova Fourierovog reda, ali u istraživanju su korištene slične funkcije koje se nalaze u sklopu *pyefd* modula i jednostavnije se koriste, a mogu se pronaći na [OpenCV](#).

Fourierova formula:

$$f_N(x) = \frac{a_0}{2} + \sum_{n=1}^N \left[a_n \cos\left(\frac{2\pi nx}{P}\right) + b_n \sin\left(\frac{2\pi nx}{P}\right) \right]$$

pokazuje da se svaka periodička funkcija $f(x)$ koja ima period P može prikazati u obliku beskonačnog zbroja trigonometrijskih funkcija (sinusa i kosinusa). Što se više članova N uključi u zbroj, to funkcija $f_N(x)$ točnije prikazuje funkciju $f(x)$. Ista ideja se može primijeniti i na bilo koju konturu u ravnini pa

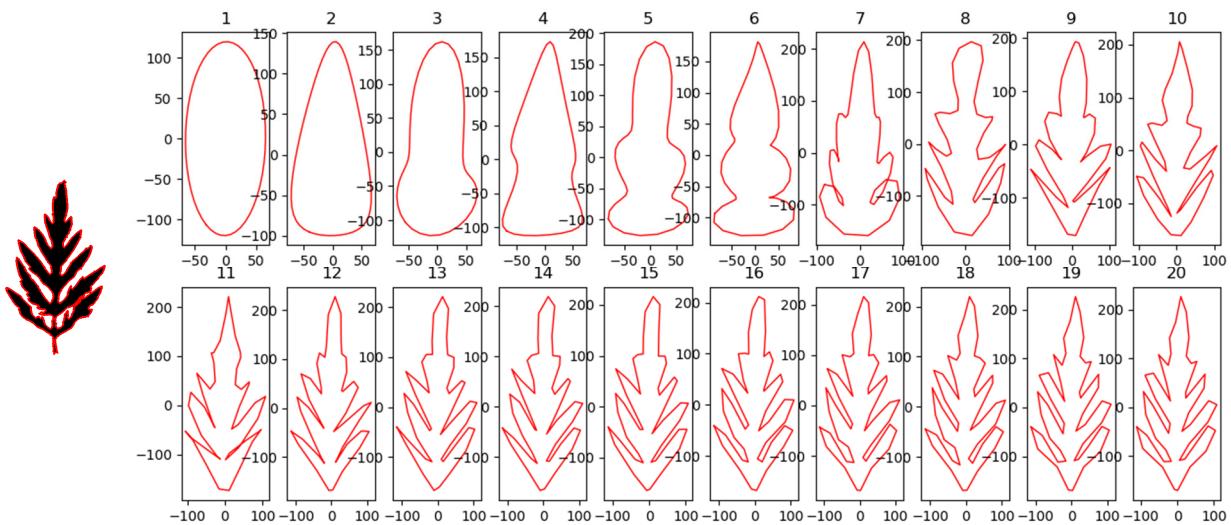
tako i na konturu koja predstavlja list biljke. Na slici 4 vidimo proizvoljno odabране координате тачака на контури листа (x_i, y_i) како би се уочило њихово периодичко понављање. Тачке су уредане у смјеру казалјке на сату. Ако обилазимо тачке на контури у смјеру казалјке на сату видимо да ће се тачке након једног обиласка понављати што указује на периодичност тачака и могућност примјене Fourierovog reda на контуре. На фотографијама координате тачака представљају координате пиксела.



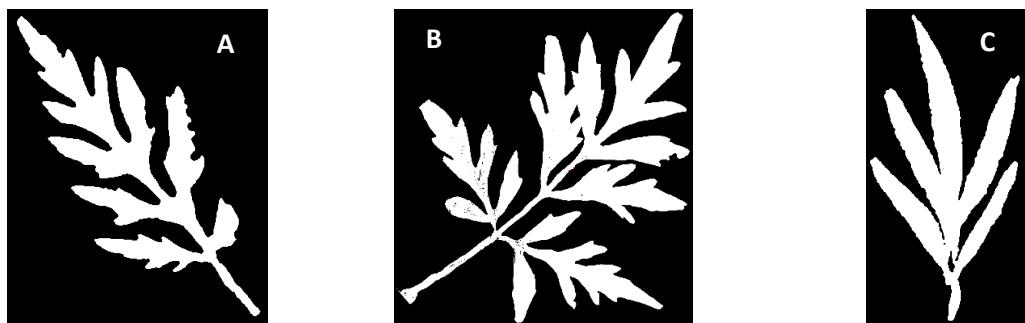
Slika 4. Тачке на контури се периодички понављају јер је контура листа затvorena па је почетна тачка уједно и завршна тачка контури

На слици 5 je objašnjen pristup prikazivanja konture листа Fourierovim redom. На слици 5 a) se vidi контура фотографираног листа ambrozije, а на слици 5 b) контуре tog листа приказане уз помоћ Fourierovog reda. Ако се користи само први члан реда, контура је приказана најједnostavnije као елипса која омеђује контуру листа и никакви детаљи нису prisутни. То је приказано на слици 5 b) - прва слика у првом redu изнад које пише број 1. Како додajemo чланове реда тако се на контури добивеној уз помоћ Fourierove формуле појављује све више детаља. На задњој слици је приказана контура добivenа употребом 20 чланова реда и на њој већ јасно видимо raspored i oblik liski. Vidimo da se liske postepeno već i ranije појављују.

Ideja примјене Fourierovih redova за препознавање је слjедећа - лист dvozuba svakako сadrži највише детаља ако се успоређује са листовима ambrozije и kineskog pelina (слике 6 a), b) i c)). Лист pelina сadrži најмање детаља. Ако узмемо првих N чланова реда, Fourierova контура ће точније представљати контуру фотографираног листа kineskog pelina него ако се ради о контури листа dvozuba. Korištenjem N чланова реда контура листа kineskog pelina ће бити сличнија фотографираном листу kineskog pelina док ће контура dvozuba коришћењем истог броја чланова реда N бити мање слична фотографираном листу dvozuba. За редове од 1 до 50 чланова, računate su dvije mjere: normalizirana razlika površine $m_p = \frac{P - P_F}{P}$ i opsega $m_o = \frac{O - O_F}{O}$, где су P и O површина i опсег контуре фотографираног листа, а P_F и O_F су површина i опсег контуре добивене Fourierovim redom. Jednostavno, површина коју омеђује контура фотографираног листа i опсег контуре се успоређује са површином i опсегом контуре која је добivenа коришћењем Fourierovog reda који има N чланова. Што је разлика између контуре фотографираног листа i Fourierove контуре мања, то се vrijednosti normaliziranih mjeri više približavaju 0.



Slika 5. (a) kontura fotografiranog lista, (b) konture dobivene upotrebom od 1. do 20. člana Fourierovog reda (s povećanjem broja članova oblik dobiven Fourierovim redom se sve više približava obliku konture fotografiranog lista)



Slika 6. (A) kontura lista ambrozije, (B) kontura lista dvozuba (vidimo najviše detalja na konturi), (C) kontura lista kineskog pelina (vidimo najmanje detalja)

Metoda za prepoznavanje i vrednovanje programskog alata

Metoda prepoznavanja je vrlo jednostavna. Na temelju odabranih relevantnih značajki kontura listova i njihovih očekivanih vrijednosti za pojedine vrste, određene su granice vrijednosti za pojedine vrste. Ako se vrijednost izračunatog parametra za fotografirani list nalazi u određenim granicama zaključuje se da na fotografiji je ili nije list određene vrste.

Testiranje uspješnosti prepoznavanja izvedeno je na testnom uzorku od 20 fotografija svake vrste. Prema navedenoj metodi prepoznavanja bilježen je broj uspješnih prepoznavanja i broj promašenih prepoznavanja. Uspješno prepoznavanje je situacija kada se na slici nalazi list određene vrste i sustav je točno odredio o kojoj se vrsti radi. Promašeno prepoznavanje je slučaj kada na slici postoji list neke vrste, ali je sustav nije prepoznao te ju je pogrešno odredio. Konačni rezultat uspješnosti je izražen postotkom uspješnih prepoznavanja triju vrsta.

REZULTATI

Kako je u metodologiji objašnjeno automatizirano prepoznavanje ambrozije temelji se na analizi digitalnih morfoloških značajki konture lista te na njezinu opisu pomoću Fourierovih redova. S ciljem da se dobije što preciznija kontura lista te u skladu s mogućnostima OpenCV-a definirali smo postupak fotografiranja i predobrade.

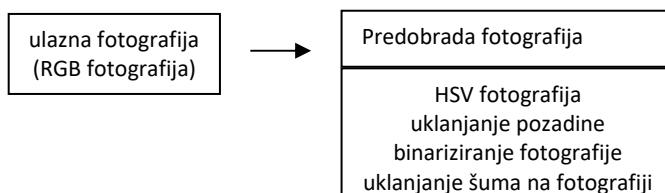
Opis definirane metode za fotografiranje i predobradu fotografija

Razvijena je takva metoda koja kao rezultat daje sliku lista s jasnom konturom. Potrebno je fotografirati izdvojeni list biljke (ne cijelu biljku) s neoštećenim, svježim, zelenim rubom kako bi se očuvala točna kontura. List pri fotografiranju ne smije biti jako osvijetljen niti u sjeni. Pozadina u pravilu ne mora biti jednobojna, ali ne smije sadržavati veće površine zelene boje od površine lista. List se fotografira na stabljici, a pri tom se stavlja papir ili kartona iza lista. Može se koristiti i drugi način za fotografiranje lista, tako da se list najprije otkine i zatim stavi na betonsku ili neku drugu pozadinu (npr. kamen). Pri kidanju lista treba paziti da se ne ostavi duga peteljka koja bi mogla izobličiti konturu lista.

Predobrada fotografije važan je dio automatiziranog prepoznavanja jer je njezin konačni rezultat kontura lista. Predobrada (slika 7 i 8) započinje preobrazbom fotografije iz RGB prikaza u HSV prikaz. OpenCV to omogućava naredbom `HSV=cv2.cvtColor (image, cv2.COLOR_BGR2HSV)`. U HSV (hue, saturation, value) modelu boja se definira nijansom, zasićenosti i vrijednosti, a to su ujedno i parametri kojima se zadaje boja u ovom modelu. Pošto list ne čini samo jedna nijansa zelenih piksela, definiran je raspon zelene boje koja se može pojaviti na listovima što se u Pythonu može zapisati pomoću sljedećih naredbi:

```
lower_green = np.array([30,50,50]) #[H, S, V]
upper_green = np.array([90,255,255])
```

Funkcija `inRange` u naredbi: `image=cv2.inRange (HSV, lower_green, upper_green)` prima kao parametre najmanju i najveću vrijednost definiranog raspona zelene boje te stvara sliku na kojoj su propušteni pikseli u tom rasponu. Fotografija se zatim binarizira, odnosno svi pikseli iznad određenog praga postaju crni, a oni ispod bijeli. Šum na fotografijama (pikseli koji su propušteni, a ne nalaze se na ili unutar konture lista; vide se bijele točkice na slici 8 c)) su uklonjeni tako da su pronađene sve konture te je ostavljena samo ona s najvećim opsegom, a to je kontura lista. Naredba u OpenCV-u koja služi za traženje kontura je: `im, contours, hierarchy= cv2.findContours (binary, cv2.RETR_EXTERNAL, cv2.CHAIN_APPROX_SIMPLE)`.



Slika 7. Shema tijeka predobrade fotografije



Slika 8. Predobrada fotografije: (A) snimljena RGB fotografija, (B) HSV slika, (C) binariziran prikaz prethodne slike (postoje mrlje na slici koje predstavljaju mesta ostalih zelenih dijelova na fotografiji koji ne pripadaju listu), (D) izdvojena je samo najveća kontura na slici

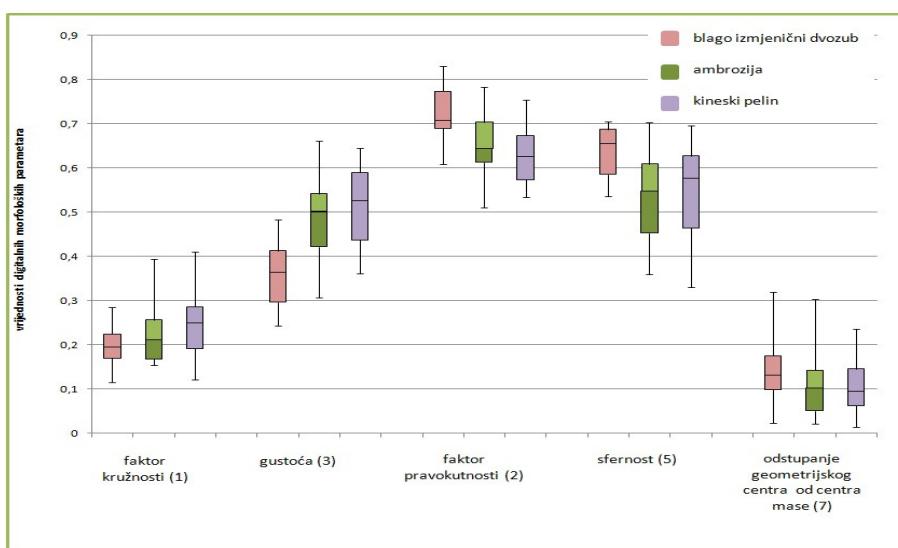
Vrijednosti digitalnih morfoloških značajki

Digitalne morfološke značajke su radi boljeg prikaza raspona njihovih vrijednosti podijeljene u dva dijagrama različitih mjerila (slike 9 i 10). Dobiveni skupovi podataka, odnosno vrijednosti pojedinih značajki su na dijagramima prikazani tako da se vide najmanje vrijednosti, donji kvartili, medijani, gornji kvartili i najveće vrijednosti. Što je preklapanje vrijednosti parametara veće, to je moguća točnost prepoznavanja na temelju njih manja. Ako uspoređujemo ambroziju i kineski pelin rasponi vrijednosti parametara dviju vrsta se preklapaju pa je očito da se samo na temelju vrijednosti ovih značajki ne može određivati o kojoj vrsti se radi (slika 9 i 10). Medijan parametara koji predstavlja omjer opsega konture lista i promjer (značajka 8) u blago izmjeničnog dvozuba poprima najveću vrijednost u odnosu na ambroziju i kineski pelin, uz manje preklapanje s podacima druge vrste što je vidljivo u dijagramu na slici 10. Očekivana granica vrijednosti te značajke za prepoznavanje dvozuba iznosi 8, a ona je određena na temelju podataka prikazanih na grafičkom prikazu (slika 10). Prema tome na temelju vrijednosti te značajke može s određenom točnošću određivati je li biljka dvozub ili ne.

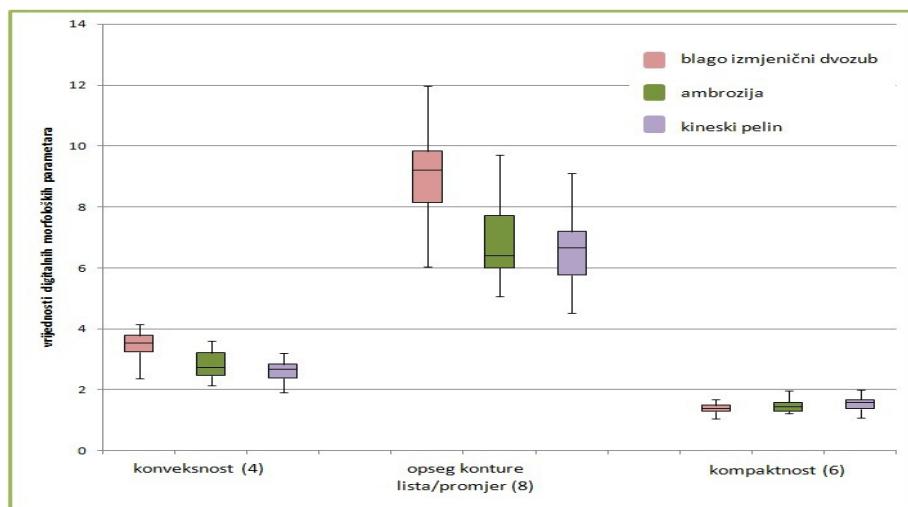
Rezultati prepoznavanja na temelju Fourierovih redova

Normaliziranu razliku površine $m_p = \frac{P - P_F}{P}$ nije moguće koristiti za prepoznavanje jer je površina nastala korištenjem samo prvog člana Fourierovog reda (elipsa prikazana na slici 5) veća od površine koju omeđuje kontura fotografiranog lista. Zbog toga je ideja o prepoznavanju na temelju površine odbačena.

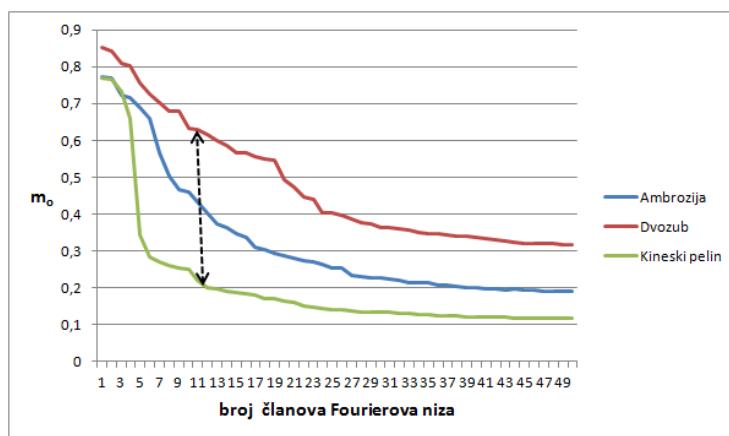
Mjera $m_o = \frac{o - o_F}{o}$ (predstavlja normaliziranu razliku opsega konture fotografiranog lista i Fourierove konture) se kontinuirano smanjuje tj. točnost prikazivanja raste kako se povećava broj članova reda (slika 11). Udaljenost između krivulja je najveća oko točke koja predstavlja upotrebu 11 Fourierovih članova reda i to je mjesto na kojem se može ostvariti prepoznavanje s najboljim rezultatima (slika 11). Očekivana vrijednost mjere m_o je između opsega konture lista dvozuba i Fourierove konture dobivene upotrebom prvih 11 članova jednaka 0,63. Za ambroziju je to 0,43, a za kineski pelin 0,21. Dakle upotrebom jedanaest članova reda opseg konture kineskog pelina će se već vrlo dobro poklapati s opsegom Fourierove konture, dok će to poklanjanje kod dvozuba biti puno manje. Prema tome na temelju vrijednosti mjere m_o se može s određenom točnošću određivati o kojoj se vrsti radi.



Slika 9. Vrijednosti digitalnih morfoloških značajki za sve tri vrste s najmanjim i najvećim vrijednostima



Slika 10. Vrijednosti digitalnih morfoloških značajki za sve tri vrste s najmanjim i najvećim vrijednostima



Slika 11. Prosječne vrijednosti mjere m_o za tri vrste koje su određene iz skupa slika za učenje.

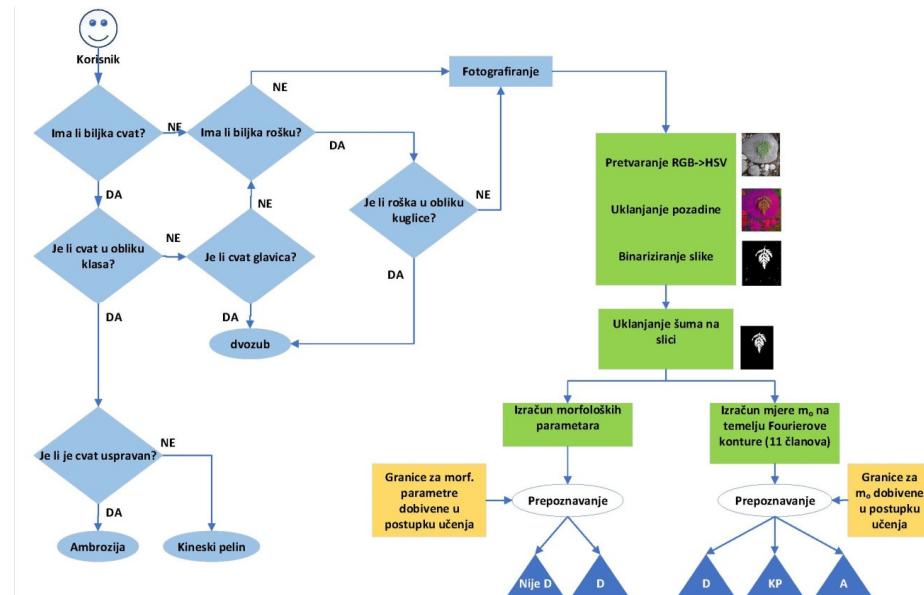
Procjena točnosti prepoznavanja

Granica za prepoznavanje blago izmjeničnog dvozuba pomoću morfološke značajke: opseg konture lista i promjera lista iznosi 8. Primijenjeno na testnom skupu, točnost prepoznavanja blago izmjeničnog dvozuba na temelju morfoloških karakteristika iznosi 60%. Granice za prepoznavanje vrsta na temelju mjere m_o određene su za Fourierov red s jedanaest članova i iznose: do 0,3 za kineski pelin, od 0,3 do 0,52 za ambroziju te preko 0,52 za dvozub. Procjena točnosti prepoznavanja za kineski pelin iznosi 30%, za ambroziju 47%, a za dvozub 30%. Prosječni rezultat točno prepoznatih fotografija za sve tri vrste na temelju mjere m_o iznosi 42%.

Upotreba programskog alata

Dijagram toka (slika 12) predstavlja sveobuhvatni prikaz rezultata istraživanja. Na njemu je prikazan postupak za upotrebu programskog alata. Plavi rombovi predstavljaju odluke vezane uz prepoznavanje biljaka za vrijeme cvatnje. Ako se na biljci raspoznaaju žućkasti ili svijetlozeleni klasovi radi se o ambroziji (cvate od srpnja do rujna) (slika 13 a)). Za vrijeme cvatnje (od lipnja do kolovoza) se blago izmjenični dvozub razlikuje od ambrozije žutim cvatovim glavicama (slika 13 b)). Nakon cvatnje dvozub je moguće raspozнативи prema plodu u obliku glavice (slika 13 c)). Kineski pelin je za vrijeme cvatnje (od rujna do studenoga) raspozнативи prema žućkastim klasovima izrazito povijenim u obliku luka (slika 13 d)). Ako se na biljci raspoznaaju cvat ili plod nije potrebno koristiti alat za

automatizirano prepoznavanje. Kada na biljci ne postoje cvatovi potrebno je uslikati list te koristiti alat za automatizirano prepoznavanje. Zeleni pravokutnici predstavljaju akcije koje su automatizirane i za koje su napisani programi u Python programskom jeziku.



Slika 12. Dijagram toka koji prikazuje način upotrebe programskog alata



Slika 13. Biljni organi prema kojima se vrste mogu prepoznati za vrijeme cvatnje: (A) cvat ambrozije (fotografirala Ana Randić), (B) cvat dvozuba (izvor FCD), (C) plod dvozuba (fotografirala Ana Randić), (D) cvat kineskog pelina

RASPRAVA

Istraživanje je pokazalo da korištene digitalne morfološke značajke nisu primjenjive za automatizirano prepoznavanje u svim situacijama, odnosno njihove vrijednosti su se preklapale za tri proučavane vrste. Za neke listove vrijednosti su odstupale od vrijednosti karakterističnih listova za određenu vrstu i preklapale su se s vrijednostima druge vrste što objašnjavamo postojanjem netičkih listova u skupovima slika za učenje i testiranje. Takvi netični listovi su imali oštećenu konturu čiji uzrok može biti jako osvjetljenje pri fotografiranju, suhi, tamniji dijelovi lista ili postojanje insekata na listu. Također su listovi slikani u različitim stadijima morfološkog razvoja čime je na fotografijama varirala složenost i broj detalja na listovima iste vrste. Alat nije uspio razlikovati mlade listove ambrozije od listova kineskog pelina. Slično se događalo i s listovima ambrozije te nepotpuno razvijenim listovima blago izmjeničnog dvozuba. Listovi kineskog pelina koji su bili posve mladi također se nisu mogli prepoznati.

Iako je Istraživanje pokazalo da sedam od osam korištenih digitalnih morfoloških značajki nisu relevantne za prepoznavanje tri vrste, neke značajke su primjenjive u opisivanju listova i mogu poslužiti za druga istraživanja. Uočeno je nekoliko takvih mogućih primjena.

Digitalna morfološka značajka - konveksnost pogodna je za raspoznavanje jednostavnih od složenih listova. Ona se definira kao omjer konture lista i najvećeg konveksnog područja u koje stane kontura lista. Dakle, ako su navedene konture iste radi se o listu koji nema konkavna područja (bez liski).

Značajka koja se definira kao omjer površine lista i površine opisane kružnice je pogodna za raspoznavanje perasto sastavljenih od dlanasto sastavljenih listova. Površina dlanasto sastavljenih listova zauzima veću površinu najmanje opisane kružnice od perasto sastavljenih listova.

Značajka - sfernost se definira kao omjer radiusa upisane i radiusa opisane kružnice najmanjeg pravokutnika u koji stane kontura lista. Vrijednost parametra sfernosti je najveća kod listova čiji je opisani pravokutnik zapravo kvadrat odnosno kod likova koji nemaju dominantnu veličinu. Zato je ovaj parametar pogodan za razlikovanje listova kod kojih je jedna veličina (duljina ili širina) izraženija u odnosu na drugu od onih kod kojih su širina i duljina jednake.

Kod proučavanih vrsta, vrijednosti većine parametra se preklapaju što objašnjavamo njihovim rastom na sličnoj geografskoj širini i sličnim uvjetima na staništu. Odnosi između opsega i površine lista su uvjetovani količinom padalina koje to stanište dobiva. Naime, biljke koje žive na sušim staništima imaju uglavnom rasperjane listove kako bi smanjile njegovu površinu i mogućnost transpiracije jer su tako zaštićene od isušivanja (Nikolić, 2017). Vrijednosti digitalne morfološke značajke koja opisuje omjer opsega konture lista i promjera lista se kod blago izmjeničnog dvozuba razlikuju od ambrozije i kineskog pelina. To je tako jer list blago izmjeničnog dvozuba sadrži najviše detalja odnosno isperaka pa je opseg konture u odnosu na promjer lista najveći.

Na temelju odabralih digitalnih morfoloških značajki nije moguće odrediti je li na fotografiji prisutan list ambrozije, već je samo moguće odgovoriti na pitanje je li na fotografiji list dvozuba ili nije. Radi toga je korištena i druga metoda za prepoznavanje oblika na temelju krivulja koje dobijemo pomoću Fourierovih redova. Pristup prepoznavanju uz pomoć Fourierovih redova je pogodan u situacijama kada je potrebno razlikovati oblike s većim brojem detalja od onih jednostavnijih. Kada koristimo prvih N članova Fourierova reda i radi se o listu s malo detalja, Fourierova kontura će biti sličnija konturi fotografiranog lista nego ako se radi o rasperjanjem listu. Mjera m_o će kod jednostavnog lista imati malu vrijednost uz upotrebu N članova reda zbog male razlike između Fourierove konture i konture fotografiranog lista, a kod rasperjanijeg lista veća. Taj rezultat nam omogućava prepoznavanje biljaka tako da se nakon fotografiranja i pripreme fotografije najprije izračuna mjera m_o . Ako se njezina vrijednost nalazi oko jedne od tri očekivane vrijednosti u određenim granicama, na temelju te informacije možemo prepoznati biljku čiji list se nalazi na fotografiji.

U nastavku istraživanja ove teme trebalo bi prikupiti veći broj fotografija namijenjenih za učenje. Fotografije treba snimati pridržavajući se definiranog postupka za fotografiranje koji osigurava dobivanje precizne konture lista. To bi omogućilo dobivanje statistički točnijih vrijednosti digitalnih morfoloških značajki. Potrebno je povećati i broj fotografija za testiranje i tako dodatno ispitati točnost prepoznavanja alata. Bilo bi zanimljivo pronaći vrijednosti digitalnih morfoloških značajki i mjera m_o (normalizirana mjera opsega) za druge listove drugih biljnih vrsta te usporediti koliko se razlikuju od mjera triju vrsta koje su proučavane u radu.

Također bi se mogle istražiti mogućnosti primjene i nekih drugih metoda prepoznavanja. Jedna od mogućih ideja je korištenje značajki koje opisuju raspored žila na listu te lisaka (Gang Wu i sur., 2007).

Razvijeni programski alat bi trebalo prilagoditi za korištenje na pametnim telefonima. To bi značilo razvoj odgovarajuće aplikacije koja bi se mogla efikasno koristiti na terenu. Takav alat bi također mogao omogućavati i automatizirano kartiranje staništa pohranjivanjem GPS lokacije prilikom fotografiranja, a naknadnim inspekcijskim posmatranjem bi se moglo utvrđivati je li biljka uspješno uništena. Kao primjer, jedna aplikacija za mobilne telefone koja omogućava kartiranje staništa ambrozije i dokumentiranje aktivnosti uništavanja razvijena je u sklopu javnog javozdravstvene akcije „Alergični na alergije“. Informacije se mogu pronaći na poveznici (www.alericni.com). Za razliku od te aplikacije, osnovna funkcionalnost našeg programskog alata je automatizirano prepoznavanje biljaka, dok se funkcije kartiranja mogu naknadno ugraditi kao dodatne mogućnosti.

Izrađen je programski alat koji na temelju morfoloških karakteristika lista omogućava automatizirano prepoznavanje tri vrste s određenom točnošću čime je potvrđena hipoteza.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja doneseni su slijedeći zaključci:

- ☞ S izrađenim programskim alatom postignuta je točnost od 42%. Točnost bi se mogla povećati uvođenjem dodatnih značajki za prepoznavanje i povećanjem skupa fotografija za "učenje".
- ☞ Upotreba samo digitalnih morfoloških karakteristika koje su korištene u radu nisu dostatne za prepoznavanje.
- ☞ Metoda prepoznavanja pomoću Fourierovih redova uspješna je za prepoznavanje biljaka čiji se listovi razlikuju prema složenosti oblika.
- ☞ Za točnije prepoznavanje potrebno je fotografirati listove na jednakom stupnju morfološkog razvoja i bez oštećenih rubova kako bi se očuvala kontura lista.

LITERATURA

- Alerični na alergije. 2016. www.alericni.com, pristupljeno 23.2.2019.
- Boršić I., Mitić B., Nikolić T. 2014. Flora Hrvatske- invazivne biljke. Alfa, Zagreb.
- FKIT 2019. Deskriptivna statistika.
http://matematika.fkit.hr/novo/statistika_i_vjerojatnost/vjezbe/cjeline/Deskriptivnastatistika.pdf, pristupljeno 8.1.2019.
- Gang Wu S., Sheng Bao F., You Xu E.; Yu-Xuan Wang ; Yi-Fan Chang ; Qiao-Liang Xiang, 2007. A Leaf Recognition Algorithm for Plant Classification Using Probabilistic Neural Network, IEEE International Symposium on Signal Processing and Information Technology.
- Russ J. C. 2016. The Image Processing Handbook. CRC Press, Boca Raton.
- Kesić Z. 2013. Ambrozija, alergija...zvuči poznato? Dubrovniknet,
<http://www.dubrovniknet.hr/kolumna.php?id=24455#XlqjRtVKh0w>, pristupljeno 10.1.2019.
- 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.
- Lujic S. 2008. Pretraživanje slikovnih baza temeljenih na značajkama boje,
http://www.zemris.fer.hr/~kalfa/ZR/Lujic_ZR_2008, pristupljeno 10.1.2019.
- Nikolić T. 2017. Flora croatica database (FCD). Botanički zavod, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu,
<http://hrc.botanic.hr/fcd/>, pristupljeno 10.1.2019.
- Nikolić T. 2017. Morfologija biljaka-razvoj, građa i uloga biljnih tkiva, organa i organskih sustava. Alfa, Zagreb.
- OpenCV. <https://opencv.org/>, pristupljeno 9. 1. 2019.
- OpenCV. <https://github.com/hbldh/pyefd>, pristupljeno 9. 1. 2019.
- OpenCV Python Tutorial. Contours in OpenCV. 2017.
https://docs.opencv.org/3.3.0/d3/d05/tutorial_py_table_of_contents_contours.html, pristupljeno 10.1.2019.
- Python implementation of "Elliptic Fourier Features of a Closed Contour", <https://github.com/hbldh/pyefd>, pristupljeno 12.1.2019.
- Radojičić N. 2014. Rasprostranjenost, polinacija i suzbijanje ambrozije (Ambrosia artemisiifolia L.) – na području grada Vukovara, Osijek.
- Wäldche J., Mäder P. 2018. Plant Species Identification Using Computer Vision Techniques: A Systematic Literature Review, Arch Computat Methods Eng 25: 507-543.
- Wäldchen J., Rzanny M., Seeland M., Mäder P. 2018. Automated plant species identification— Trends and future directions, PLOS Computational Biology, <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005993>, pristupljeno 9.1.2019.



PRISUTNOST FEKALNOG ONEČIŠĆENJA U VODAMA TUROPOLJA

Ivor Babić, 4. razred
Magdalena Lacić, 4. razred

Gimnazija Velika Gorica, Velika Gorica
Mentor: Đurđica Maskalan

SAŽETAK

Koliiformne bakterije su bakterije koje obitavaju u donjem dijelu probavnog sustava čovjeka i toplokrvnih životinja. Primarno su nepatogene, a putem fekalija dospijevaju u površinske i podzemne vode. Cilj je ovog istraživanja ispitati količinu koliiformnih bakterija na području Turopolja, odnosno u jezeru Čiće, u kanalu Sava – Odra i u bunaru u mjestu Rakitovcu tijekom pet jesensko-zimskih mjeseci, kako bi se istražio utjecaj temperature i lokaliteta navedenih vodenih staništa na razvoj bakterija. Rezultati istraživanja pokazali su da je najveća količina koliiformnih bakterija u kupališnom dijelu jezera Čiće, a najmanja u bunarskoj vodi. Koliiformna bakterija koja je bila prisutna tijekom jesensko-zimskog razdoblja u uzorcima površinskih i podzemnih voda je *Escherichia coli*. Usapoređivanjem količine bakterijskih kolonija u uzorcima vode zaključeno je kako su površinske vode u Turopolju fekalno onečišćene jer se nalaze pod stalnim utjecajem čovjeka tijekom ispitivanog razdoblja, dok je broj bakterijskih kolonija u podzemnoj vodi iz bunara tijekom ispitivanog razdoblja bio manji zbog gotovo stalne temperature vode i zaštićenosti od prevelikog utjecaja vanjskog onečišćenja. Također, uočeno je da se smanjenjem temperature vode smanjuje i količina koliiformnih bakterija u vodi.

Ključne riječi: koliiformne bakterije; temperatura; površinske vode; podzemne vode

UVOD

Bakterije su prokariotski organizmi mikroskopske veličine, a proučava ih bakteriologija, grana mikrobiologije. Javljuju se u različitim veličinama i oblicima te često grade kolonije. Žive na gotovo svakom staništu: u vodi, tlu, zraku, ledu, na područjima iznimno visoke temperature, na površini naše kože itd. Premda nisu vidljivi golim okom, imaju važnu ulogu u životu svih živih bića, uključujući i ljudi. Bakterije su značajne za kruženje tvari u prirodi, koriste se u prehrambenoj industriji, u proizvodnji antibiotika i bioplina te utječu na plodnost tla. Jedna od njihovih važnih uloga jest razgradnja hranjivih tvari u probavnom sustavu čovjeka te sinteza nekih vitamina i enzima. Osim toga, u citoplazmi bakterija se mogu nalaziti plazmidi, male kružne molekule DNA, koje su vrlo važne za genetičko inženjerstvo.

Kako bi došlo do razmnožavanja bakterija, potrebni su povoljni energetski (hranidbeni), atmosferski i temperaturni uvjeti. Povoljni uvjeti za razmnožavanje bakterija podrazumijevaju dostatne količine hranjivih tvari i kisika te optimalnu temperaturu (Ilić, 2017). Raspon temperature koji odgovara većini bakterija je od 4 °C do 44 °C (Kalević i sur., 2013). U svrhu istraživanja, bakterije se često uzgajaju u laboratorijsima na hranjivim podlogama. Prema čvrstoći, hranjive podloge mogu biti čvrste (hranjivi agar), tekuće (hranjivi bujon) i polutekuće (Bogut i sur., 2015). Neke bakterije mogu rasti na minimalnoj podlozi, koja mora sadržavati vodu, izvor ugljika, saharozu ili glukuzu i mješavinu anorganskih soli, a druge zahtijevaju dodatke (Bogut i sur., 2018).

Ispitivanje kakvoće voda obuhvaća i ispitivanje fizikalno-kemijskih i mikrobioloških osobina koje upućuju na rizik od zaraznih bolesti. Mikrobiološki pokazatelji (npr. koliiformne bakterije) najznačajniji su indikatori onečišćenja voda sanitarno-fekalnim otpadnim vodama, a određuju se metodom membranske filtracije koja je najpogodnija za vode s nižim brojem bakterijskih kolonija (Šaško, 2017).



Koliformne bakterije su bakteriološki indikatori fekalne kontaminacije, a pripadaju skupini pravih bakterija. Prirodno obitavaju u donjem dijelu probavnog sustava čovjeka i toplokrvnih životinja, gdje osiguravaju pravilnu probavu hrane i sintezu vitamina. Koliformne bakterije iz organizma fekalijama dospijevaju u komunalne otpadne vode pa preko njih završavaju u okolišu, odnosno u podzemnim i površinskim vodama. Primarno su nepatogene, ali kao indikatori fekalnog zagađenja ukazuju na moguću prisutnost crijevnih patogenih bakterija. Neke vrste koliformnih bakterija uvjetni su (opportunistički) patogeni, koji kod zdravog čovjeka ne izazivaju bolesti. Koliformne bakterije obuhvaćaju rodove *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter* i *Escherichia*, koji su tipični predstavnici porodice *Enterobacteriaceae* (Rompre i sur., 2002).

Gospodarskim razvojem Velike Gorice i urbanizacijom okolnih naselja povećavaju se potrebe za vodom, a ispuštanjem otpadnih voda sve se više povećava onečišćenje površinskih, ali i podzemnih voda. Čiće, umjetno jezero nastalo vađenjem šljunka, udaljeno je četiri kilometra od Velike Gorice, u mjestu Novo Čiće. Iako je kupanje u ovom jezeru zakonom zabranjeno, mnogi građani ne mogu si priuštiti luksuzna putovanja za vrijeme ljetnih mjeseci, stoga slobodno vrijeme provode kupajući se u njemu. Uređaj za pročišćavanje otpadnih voda Grada Velike Gorice svojim kapacitetom ne može zadovoljiti potrebe pročišćavanja, a to rezultira povremenim ispuštanjem nedovoljno pročišćenih otpadnih voda u oborinski kanal. Takvim ispuštanjem direktno u oborinski kanal ugroženo je jezero Novo Čiće (Pašalić i sur., 2015).

Manja površina vode i zatvorenost jezera kao vode stajaćice često dovodi do kontaminacije same vode u jezeru koja nema mogućnost kontinuiranog protjecanja. Pretpostavlja se da do odstupanja pojedinih vrijednosti mikrobioloških pokazatelja jezerske vode može doći uslijed povećanja broja kupača (Ptiček Siročić, 2018).

Temperatura vode važan je abiotički čimbenik. O promjenama temperature ovise aktivnost enzima u stanici, brzina rasta i razvoja, metabolizam, kretanje i sposobnost razmnožavanja. Temperatura površinskih voda kreće se od 0 do 30 °C, a podzemne vode najčešće imaju stalnu temperaturu od oko 10 °C (Frece i Markov, 2015).

Razmišljanje o potencijalno visokoj razini onečišćenja podzemnih i površinskih voda potaknulo nas je na istraživanje prisutnosti i količine koliformnih bakterija u vodama na području Turopolja. Istraživanje je provedeno u jesensko-zimskom razdoblju koje se podudara s trajanjem školske godine i u kojem postoji dovoljna temperturna razlika između promatranih mjeseci.

Cilj je ovog istraživanja istražiti i usporediti količinu koliformnih bakterija u različitim tipovima površinskih voda (kupališni dio jezera Čiće, nekupališni dio jezera Čiće i kanal Sava – Odra pored Gradića), kao i u podzemnim vodama (bunar u mjestu Rakitovcu) tijekom jesensko-zimskog razdoblja. Pokazatelj fekalnog onečišćenja broj je bakterijskih kolonija koji se razvio na hranjivoj podlozi. Od velike važnosti smatramo istraživanje kupališnog dijela jezera Čiće prikazanog na slici 1 u kojem se ljudi kupaju tijekom ljetnih mjeseci i bunar (na dubini od oko 5 metara) u mjestu Rakitovcu kojim se ljudi koriste u poljoprivredne svrhe (slika 2). Također, želimo istražiti i utjecaj temperature vode na količinu koliformnih bakterija u prikupljenim uzorcima.



Pretpostavljamo da će količina koliformnih bakterija u kanalu Sava – Odra biti veća u odnosu na količinu u bunaru. Kanal Sava – Odra (slika 3) pod stalnim je utjecajem ulijevanja otpadnih voda jer se lokalitet uzorkovanja nalazi u neposrednoj blizini naselja, a utjecaj na podzemne vode, koje se crpe iz bunara, trebao bi biti bitno manji. Količina koliformnih bakterija u kupališnom dijelu jezera Čiće bit će veća u odnosu na nekupališni dio toga jezera s obzirom na to da se neposredno uz obalu kupališnoga dijela jezera nepropisno odlaže otpad, a utjecajem čovjeka voda se dodatno onečišćuje. Pretpostavljamo da će se smanjenjem temperature vode tijekom jesensko-zimskog razdoblja smanjiti i količina koliformnih bakterija u vodi. Pri povoljnim temperaturama vode razmnožavanje bakterija brže je u odnosu na razmnožavanje pri nižim temperaturama vode.

METODE RADA

Istraživanje je provedeno u razdoblju od 10. mjeseca 2018. g. do 2. mjeseca 2019. g. u nastavnom kabinetu biologije, u laboratoriju za mikrobiološku analizu VG Vodoopskrbe d. o. o. i Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“. Sredinom svakog mjeseca u jutarnjim satima na svakoj je postaji (slika 1, slika 2, slika 3 i slika 4) prikupljeno oko 500 mL vode, ali je korišteno 150 mL (uzorak od 50 mL i dva dodatna uzorka/replikata volumena 50 mL). Kako bi se spriječila moguća vanjska ili unutrašnja kontaminacija, prikupljanje vode vršilo se sterilnim staklenim bocama s teflonskim čepovima na navoj vidljivim na slici 5 C. Uzorci površinskih voda prikupljani su na dubini od 10 cm, a podzemna voda iz bunara na dubini od oko 5 metara. Uzorci su nakon uzorkovanja odneseni na uređaj za membransku filtraciju. Vodovodna voda kontrolni je uzorak jer prema zakonu ne bi smjela sadržavati kolonije koliformnih bakterija. Nezavisne varijable, koje utječu na rezultate, su temperatura vode i lokalitet, a zavisna varijabla je broj bakterijskih kolonija priraslih na hranjivoj podlozi. Za mjerjenje temperature vode (na dubini od 10 cm) odabran je termometar u rasponu od -40 do 40 °C koji je držan pod vodom 5 minuta kako očitanje bilo što vjernije stvarnoj temperaturi vode. Temperatura vode iz bunara mjerila se neposredno nakon vađenja.



Slika 1. Kupališni dio jezera Čiće (izvor: M. Lacić)



Slika 2. Bunar (izvor: D. Dianežević)



Slika 3. Kanal Sava – Odra (izvor: M. Lacić)



Slika 4. Nekupališni dio jezera Čiće (izvor: M. Lacić)



Korištene su dvije vrste hranjive podloge. Agar-agar prah (100 g) koji se kuhalo u nastavnom kabinetu biologije i gotov kromogeni koliformni agar (CCA). Tijekom pripreme hranjive podloge 6 g praha otopljeno je u u 250 mL destilirane vode sobne temperature u staklenoj tikvici. Smjesa je zagrijavana do temperature od 95°C pomoću plamenika. Kromogeni koliformni agar svojim je sastavom najviše prilagođen uzgoju koliformnih bakterija (prilog 2) i prikladan je za korištenje jer se prema boji kolonije može lako vidjeti o kojoj bi se vrsti bakterija moglo raditi.

Budući da se volumen od 100 mL propušta kroz uređaj za membransku filtraciju kada se radi o čistim/pitkim vodama, korišteno je samo 50 mL uzorka/replikata pomiješanog s 50 mL destilirane vode. Kako bi se iz svakog uzorka i replikata dobila maksimalna moguća koncentracija koliformnih bakterija, svaki uzorak i svaki replikat filtriran je pomoću uređaja za membransku filtraciju koji je prikazan na slici 5 B. Voda u staklenoj boci morala se promučkati kako bi se homogenizirala. Prije same filtracije steriliziranom je pincetom membranski filter promjera 47 mm (promjer pora je 0,45 µm) pažljivo stavljen na uređaj za membransku filtraciju. Zatim je uključena vakuumskna pumpa, što je omogućilo protjecanje uzorka vode od 50 mL promiješanog s 50 mL destilirane vode. Nakon filtracije membranski filter prenio se s metalnog držača na krutu hranjivu podlogu pazivši da ne zaostanu mjehurići zraka između membrane i površine hranjive podloge kako bi membranski filter bio u što većem doticaju s hranjivom podlogom. Svaka je hranjiva podloga propisno označena kako bi se kasnije omogućilo lakše prikupljanje rezultata te je stavljen u termostat temperature $36 \pm 2^\circ\text{C}$ (slika 5 A) kako bi se uspjele razviti koliformne bakterije jer početna (sobna) temperatura od 22°C u kabinetu biologije nije bila pogodna za razvoj ispitivanih kolonija. Inkubacija koliformnih bakterija na navedenoj temperaturi trajala je 24 sata nakon čega su bakterijske kolonije prebrojane pomoću povećala pri danjem svjetlu.



Slika 5. Metodologija: termostat (A), uređaj za membransku filtraciju (B), prikupljeni uzorci (C)

Statistička obrada

Kako bi rezultati bili što precizniji, na svakoj su postaji svakoga mjeseca prikupljena tri uzorka vode. Na temelju tih rezultata izračunata je srednja vrijednost broja kolonija koliformnih bakterija .

$$N = \frac{n + n_1 + n_2}{3}$$

N= srednja vrijednost broja kolonija uzorka i dvaju replikata zaokružena na dvije decimale

n=broj kolonija čije bakterije potječu iz uzorka

n₁= broj kolonija čije bakterije potječu iz prvog replikata

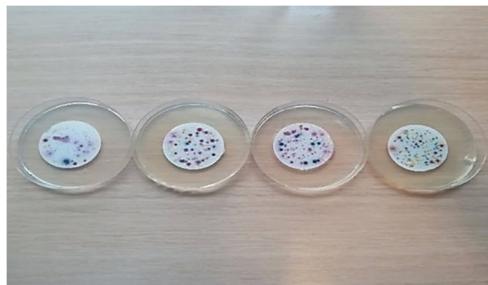
n₂= broj kolonija čije bakterije potječu iz drugog replikata

REZULTATI

U Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ utvrđeno je da se na hranjivim podlogama napravljenima u školskom kabinetu zbog njihova sastava (prilog 1) nisu razvile koliformne

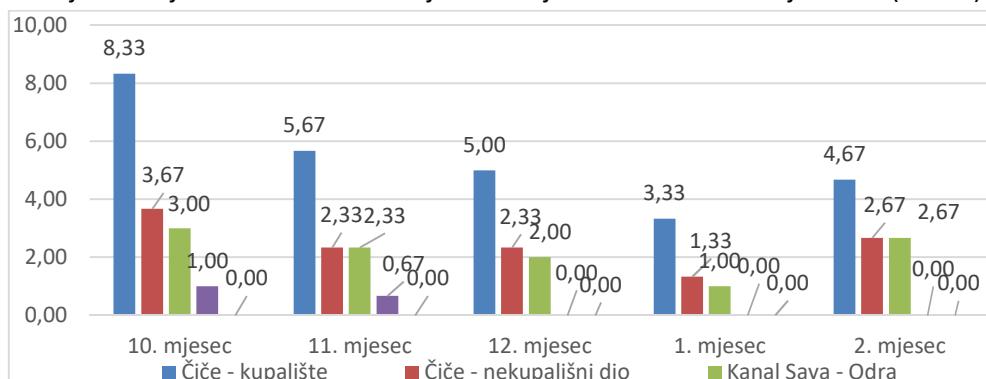


bakterije. Iako su se na gotovim hranjivim podlogama (CCA) razvile raznobojne kolonije, u Zavodu je MALDI TOF spektrometrom masa utvrđeno da se na gotovim hranjivim podlogama razvila samo jedna vrsta koliformnih bakterija (tamnoplave kolonije, slika 6). U svim je uzorcima potvrđena samo vrsta *Escherichia coli*. Utvrđene su još neke druge vrste koje pripadaju porodici *Enterobacteriaceae*, a koje se ne smatraju službeno koliformnim bakterijama i puno pozadinske flore iz okoliša koja je čak davala lažno pozitivno obojenje kolonija na CCA.



Slika 6. Prikaz kolonija na CCA (izvor: I. Babić)

Srednja vrijednost broja kolonija koliformnih bakterija (slika 7) proporcionalna je količini koliformnih bakterija. Zbog toga je svaki mjesec najveća količina koliformnih bakterija bila u kupališnom dijelu jezera Čiče, a najmanja u bunarskoj vodi. Količina koliformnih bakterija u nekupališnom dijelu jezera Čiče i u kanalu Sava – Odra svaki je mjesec bila približna s obzirom na to da su njihove srednje vrijednosti broja kolonija koliformnih bakterija svaki mjesec imale bliske vrijednosti (slika 7).



Slika 7. Srednja vrijednost broja kolonija koliformnih bakterija tijekom jesensko-zimskog razdoblja



Slika 8. Ovisnost ukupnog broja kolonija koliformnih bakterija o temperaturi



Za svaki je mjesec izračunat ukupan broj kolonija (N od kupališnog dijela + N od nekupališnog dijela + N od bunara + N od kanala Sava – Odra). Ukupan broj kolonija u listopadu iznosi 16, u studenom 11.00, u prosincu 9.33, u siječnju 5.66, a u veljači 10.01. Temperatura i ukupan broj kolonija smanjivali su se od listopada do siječnja, a u veljači je ponovno uočljiv njihov rast, što se može vidjeti na slici 8.

RASPRAVA

Broj kolonija na hranjivoj podlozi pokazuje koliko je fekalno onečišćenje vode. Usporedbom svih rezultata dobivenih iz navedenih uzoraka vode s vodovodnom vodom moguće je uočiti oscilacije u broju koliformnih bakterija tijekom jesenko-zimskog razdoblja. Količina koliformnih bakterija u nekupališnom dijelu jezera svaki je mjesec bila manja od količine koliformnih bakterija u kupališnom dijelu jezera, što je i očekivano zbog utjecaja čovjeka i nepropisnog odlaganja otpada neposredno uz obalu kupališnog dijela. Odlagališta otpada predstavljaju opasnost od zagađenja zbog otopljenih ili suspendiranih tvari koje ulaze u vodu prilikom prolaska vode kroz odlagalište (Frece i Markov, 2015). U svom radu Ptiček Siročić i suradnici (2018) navode korelaciju između broja kolonija i razine fekalnog onečišćenja umjetnog jezera Motičnjak, nastalog vađenjem šljunka kao i jezero Čiče, u razdoblju od 2010. g. do 2015. g. Što je veći broj razvijenih kolonija koliformnih bakterija, to je fekalno onečišćenje veće. Uspoređujući rezultate dobivene analizom broja koliformnih kolonija potvrđena je prepostavka da će u kupališnom dijelu jezera biti više bakterija u odnosu na nekupališni dio jezera Čiče. Prema Freceu i Markovu (2015) razlog tomu je suspendacija pjeska i zemlje koja, zajedno s organskom tvari koja dospijeva iz okoliša i odgovarajućom temperaturom, uzrokuje kontaminaciju i razvoj mikroorganizama u vodi. U blizini kupališnog dijela jezera nalazi se i uređaj za pročišćavanje okolnih otpadnih voda koji ugrožava čistoću i povećava zagađenje vode. Pročistač otpadnih voda ne može svojim kapacitetom zadovoljiti određene norme pročišćavanja pa se višak otpadnih voda često slijeva u jezero Čiče čime ugrožava mikrobiološki sastav vode (Pašalić i sur., 2015). Nekupališni dio jezera je u odnosu na kupališni izoliraniji i time je zaštićeniji od mogućih zagađivača.

Svakog je mjeseca količina koliformnih bakterija u vodi iz kanala bila veća od količine koliformnih bakterija u vodi iz bunara. Zbog blizine naselja kućanske otpadne vode imaju velik utjecaj na količinu koliformnih bakterija u kanalu Sava – Odra. U tu grupu mogu se svrstati sve vode koje u širem smislu služe za vodoopskrbu stanovništva, odnosno za zadovoljavanje životnih funkcija, sanitarnih potreba i za komunalnu gradsku potrošnju. Obiluju mikroorganizmima od kojih prevladavaju bakterije. Imaju višu temperaturu u odnosu na vodovodnu vodu za 16-20 °C, što pogoduje ubrzavanju bioloških procesa (Ovčarićek, 2017). Usporedbom rezultata broja kolonija u vodi iz kanala i bunarske vode moguće je uočiti razliku između količine svaki mjesec. Bunarska je voda svaki mjesec sadržavala manji broj koliformnih bakterija zato što je utjecaj otpadnih voda na podzemnu vodu iz bunara bitno manji zbog njegove zatvorenosti i izoliranosti.

Istraživanje je pokazalo da se porastom temperature vode povećava i količina koliformnih bakterija u vodi jer se za vrijeme toplijih mjeseci povećava metabolički i reproduktivni potencijal bakterija (Kuna i sur., 2013). U uzorcima vode tijekom jesenskih i zimskih mjeseci analizom su potvrđene kolonije koliformne bakterije *E. coli*. Rezultati se mogu usporediti s istraživanjem Kune i suradnika (2013) koji zaključuju da postoji pozitivna korelacija između koliformnih bakterija, odnosno *E. coli*, i abiotičkog parametra, to jest temperature vode. Temperatura vode u kupališnom i nekupališnom dijelu jezera Čiče te u kanalu Sava – Odra svaki je mjesec bila približne vrijednosti i varirala je od 18 °C u listopadu



(do najniže temperature u siječnju od 6,5 °C. Temperatura vode u bunaru mijenjala se od 13 °C u listopadu do 8 °C u veljači. U svom radu Podravec (2014) navodi kako razlozi relativno stalne temperature bunarske vode mogu biti zatvorenost i izoliranost takve podzemne vode te dubina koja je u našem istraživanju kod bunara iznosila oko 5 metara. Temperatura vode na svim lokalitetima kontinuirano se smanjivala u razdoblju od 10. mjeseca do 1. mjeseca. Zato je ukupan broj kolonija bio najveći u listopadu 2018., a najmanji u siječnju 2019. Temperatura vode u prosincu i veljači bila je približne vrijednosti (12°C i 12,5°C za površinske vode, 10°C za vodu iz bunara), stoga je i ukupan broj kolonija vrlo sličan (9,33 u prosincu, 10,01 u veljači). Ukupan broj kolonija razvijenih na hranjivoj podlozi u studenom (ukupno 11,00) veći je u odnosu na veljaču i prosinac s obzirom na to da je i temperatura vode bila viša (16°C za površinske vode i 12°C za podzemne vode). Vodovodna voda kao kontrolni uzorak nijedan mjesec nije sadržavala koliformne bakterije, što je prema zakonu i propisano.

U tumačenju svih rezultata treba uzeti u obzir mali broj ponavljanja, odnosno mali broj replikata (2) u odnosu na uzorak. Jedan od metodoloških nedostataka našeg istraživanja jest nemogućnost konzerviranja uzorka u vremenu od uzorkovanja do procesa membranske filtracije. U tom vremenu u uzorku se mogu odvijati različiti fizikalno-kemijski i biološki procesi, ovisno o izloženosti svjetlu, osobinama posuda i vremenskom trajanju od uzorkovanja do analize. Također, javljaju se metodološki problemi pri uzorkovanju vode iz bunara. Dodir s atmosferskim kisikom može uzrokovati oksidaciju i povećanje mikrobiološke aktivnosti, stoga je važno da se uzorak što prije pohrani u sterilne staklene boce. Pri uzorkovanju podzemnih voda dolazi do fizikalnih i kemijskih promjena vode, koje se javljaju kada se uzorak dovede na površinu. Jedna od tih promjena jest i promjena temperature, stoga se temperatura podzemne vode mora izmjeriti odmah nakon njena vađenja na površinu. Na rezultate istraživanja mogla je utjecati i Sunčeva svjetlost. Ona je snažan abiotički čimbenik koji može inaktivirati ili ubiti indikatorske bakterije u vodama na manjim dubinama kao što je dubina od 10 cm (Frece i Markov, 2015).

ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja moguće je zaključiti da je u vodama Turopolja prisutno fekalno onečišćenje. Površinske vode fekalno su zagađenje od podzemnih i utjecajem čovjeka dodatno se mijenja njihov mikrobiološki sastav. Temperatura vode važan je abiotički čimbenik i proporcionalan je količini koliformnih bakterija u vodi, što znači da smanjenje temperature vode uvjetuje manju količinu koliformnih bakterija u vodi.

ZAHVALA

Tijekom istraživanja nekolicina je onih koji su nas podržavali i usmjeravali nas kada je to bilo potrebno. Tom prigodom zahvaljujemo se djelatnicima VG Vodoopskrbe koji su nas savjetovali tijekom istraživanja. Zahvalnost dugujemo i djelatnicima Zavoda za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar, a posebice Vesni Šušnjara te Ireni Žilić, bez čije pomoći i suradnje velik dio istraživanja ne bi bilo moguće provesti. Zahvaljujemo Antunu Drobnjaku na tehničkoj podršci i strpljenju tijekom rada, Patriku Vukoviću na montaži i produkciji kratkog filma našeg istraživanja te Luciji Poturić na spremnosti i dostupnosti kada nam je bilo najpotrebnije. Ponajviše se zahvaljujemo našoj mentorici Đurđici Maskalan koja je vjerovala u naš uspjeh i poticala nas na istraživanje kada nam je to bilo najpotrebnije. Zahvaljujemo se i svim ostalima koje nismo spomenuli, a pridonijeli su, na neki način, istraživanju.

LITERATURA

Bogut I., Čerba D., Marceljak Ilić M., Đumlija S., Lichtental M. 2018. Genetika virusa i bakterija. U Bogut I. (ur.), Biologija 4. Alfa, Zagreb, str. 50 – 53.



- Bogut I., Futivić I., Špoljarević M., Bakarić A. 2015. Nadcarstvo: Eubakterije. U Bogut I. (ur.), Biologija 2. Alfa, Zagreb, str. 17 – 24.
- Frece J., Markov K. 2015. Uvod u mikrobiologiju i fizikalno-kemijsku analizu vode. Inštitut za sanitarno inženirstvo, Ljubljana
- Ilić M. 2017. Mikrobiološka kontrola bunarske vode u općini Brestovac. Repozitorij Veleučilišta u Požegi.
<https://repositorij.vup.hr/islandora/object/vup%3A575/dastream/PDF/view>, pristupljeno 20. 2. 2019.
- Kalenić S. i sur. 2013. Laboratorijska dijagnostika bakterijskih infekcija, U Kalenić S. (ur.), Medicinska mikrobiologija. Medicinska naklada, Zagreb, str. 71 – 78.
- Kalenić S. i sur. 2013. Uvod u medicinsku mikrobiologiju, U Kalenić S. (ur.), Medicinska mikrobiologija. Medicinska naklada, Zagreb, str. 3 – 6.
- Kuna E., Krpan Lj., Palijan G. 2013. Dinamika broja koliformnih bakterija u poplavnom području Kopački rit. Hrvatske vode 22: 89 – 96.
- Ovčariček S. 2017. Kućanske otpadne vode. Repozitorij Veleučilišta u Karlovcu.
<https://zir.nsk.hr/islandora/object/vuka:663/preview?fbclid=IwAR38g4QYd9q7ZUN4Vai480TOCc6Yeie9-jI12yaDv3xIPFJOAgnFFfWF2g>, pristupljeno 21. 2. 2019.
- Pašalić G. i sur. 2015. Studija o utjecaju na okoliš za zahvat rekonstrukcija/dogradnja uređaja za pročišćavanje otpadnih voda Velika Gorica s pripadajućim sustavom odvodnje. Grad Velika Gorica. www.gorica.hr/dokumenti/suo-procistac.pdf, pristupljeno 10. 1. 2019.
- Podravec D. 2014. Komparativna faunističko-mikrobiološka istraživanja bunarske vode Virja od 1986. do 1989. Podravina 13: 39 – 75.
- Ptiček Siročić A., 2018. Korelacijska analiza pokazatelja kakvoće vode jezera Motičnjak. Hrvatske vode 26: 203 – 210.
- Rompre A., Servais S., Baudart J., de-Roubin M.-R., Laurent P. 2002. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. Journal of Microbiological Methods 49: 31 – 54.
- Šaško I. 2017. Analiza mikrobioloških pokazatelja kakvoće vode za kupanje. Repozitorij Sveučilišta u Zagrebu.
<https://repositorij.gfv.unizg.hr/islandora/object/gfv:205/preview>, pristupljeno 22.4.2019.

PRILZOJI

Prilog 1 Sastav Agar – agar praha (izvor: agargel.com.br)

GENERAL PROPERTIES

Appearance	Yellowish Powder
Particle Size	100 Mesh
Moisture Content	Max. 18%
Water Absorption	Max. 75 c.c.
Acid Insoluble Ash	Max. 0.5%
Total Ash	Max. 6.5%
Foreign Organic Material	Max. 1.0%
Foreign Insoluble Material	Max. 1.0%
Gelatin	Negative
pH	6.8 to 7.0
Gel Strength 1.5% sol at 20° C	700 to 1000 g/cm ²
Viscosity 1.5% sol at 60° C	10 to 100 cps
Melting Point	85° to 95° C
Setting Point	32° to 45° C
Solubility	Boiling Water
Arsenic	Max. 3 ppm
Heavy Metals	Max. 10 ppm
Starch	Negative
Lead	Max. 10 ppm

Prilog 2 Sastav CCA (izvor: Rompre i sur.)

Sastojci	g/L
Enzymatic digest of casein	1.00
Yeast extract	2.00
Sodium chloride	5.00
Monosodium phosphate	2.20
Disodium phosphate	2.70
Tryptophan	1.00
Sodium pyruvate	1.00
Tergitol®7	0.15
Sorbitol	1.00
6-Chloro-3-indoxyl-β-D-galactopyranoside	0.20
5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-β-D-glucuronide	0.10
IPTG	0.10
Agar	13.00

pH: 6.8 ±0.2

MICROBIAL PROPERTIES

Standard Plate Count	< 5000 col/g
E.Coli	Negative
Salmonella	Negative
Total Coliform	< 100 col/g