



Hrvatsko biološko društvo
Societas biologorum croatica

Biozhalac

časopis učeničkih istraživanja iz biologije



2022.



Pokrovitelj:



ISSN 1849-837X

BIOZNALAC



časopis učeničkih istraživanja iz biologije

5. 5. 2022.

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

Doroteja Domjanović Horvat, Filip Stević, Miroslav Samardžić, Andreja Lucić,

Dorotea Vrbanović, Fran Rebrina

Web urednik

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

Bioznalac je elektronički časopis na web stranici HBD-a

i izlazi najmanje jednom godišnje

SADRŽAJ

Bioznalac 2022.

Članak	Autori	Naslov rada	Razred	Mentor	Naziv škole	Stranice
1	<i>Magdalena Panić Dora Bijelić Mia Cvitak Anja Bosnić David Žubčić</i>	<i>Posoli za pH</i>	7. 7. 8. 8. 8.	<i>Ankica Veseljić</i>	OŠ Banija, Karlovac	1 - 6
2	<i>Nadalina Jerčić Ena Stanić</i>	<i>Što je danas na jelovniku</i>	8.	<i>Tamara Banović</i>	Osnovna škola Josip Pupačić, Omiš	7 - 21
3	<i>Sara Polašek</i>	<i>Koliko je COVID-19 smanjio svijet: utjecaj bolesti na osjet mirisa i okusa</i>	8.	<i>Nada Matanić</i>	Osnovna škola Augusta Harambašića, Zagreb	22 - 35
4	<i>Karla Lea Čerkuć</i>	<i>Utjecaj različitog uzgoja dagnji (<i>Mytilus galloprovincialis</i> LMK.) na njihovu veličinu</i>	2.	<i>Mihaela Marceljak Ilić</i>	XV. gimnazija, Zagreb	36 - 43
5	<i>Lucija Glavičić Marović</i>	<i>Prisutnost mikroplastike u zaštićenom i nezaštićenom akvatoriju zapadne obale Istre</i>	2.	<i>Mihaela Marceljak Ilić</i>	XV. gimnazija, Zagreb	44 - 58
6	<i>Kate Kukuljica</i>	<i>Utjecaj začinskih biljaka s dalmatinskoga područja na rast kolonija nepatogenoga soja bakterije <i>Escherichia coli</i></i>	2.	<i>Nela Mandić</i>	Gimnazija Franje Petrića, Zadar	59 - 68
7	<i>Goran Narančić</i>	<i>Utjecaj hidroporskog uzgoja biljaka na klijanje i rast bosička (<i>Ocimum basilicum</i> L.) i zelene salate (<i>Lactuca sativa</i> L.) u usporedbi s tradicionalnim načinom uzgoja</i>	2.	<i>Mihaela Marceljak Ilić</i>	XV. gimnazija, Zagreb	69 - 81
8	<i>Nika Miličević</i>	<i>Primjena utjecaja sinestezije na poboljšanje kognitivnih sposobnosti učenika srednje škole</i>	3.	<i>Romana Halapir Franković</i>	V. gimnazija, Zagreb	82 - 95
9	<i>Maritea Arelić</i>	<i>Utjecaj prirodnih biostimulatora na obični grah (<i>Phaseolus vulgaris</i>) u uvjetima povišenog saliniteta</i>	4.	<i>Emica Pandurić</i>	Gimnazija Andrije Mohorovičića, Rijeka	96 - 107
10	<i>Barbara Golub Petra Kovačić</i>	<i>Bioinsekticidno djelovanje gljive <i>Beauveria bassiana</i> Bals. – Criv. Vuill. na hrastovu mrežastu stjenicu (<i>Corythucha arcuata</i> Say, 1832.)</i>	4. 4.	<i>Klementina Stepinac</i>	Srednja škola Jastrebarsko, Jastrebarsko	108 - 116
11	<i>Mate Ćurić Ante Ćorić Tonkica Strmić</i>	<i>Utjecaj sunčeve svjetlosti na žućenje i opadanje listova</i>	4. 4. 3.	<i>Ivana Stipoljev, Mihajlo Lerinc</i>	SŠ Braća Radić, Kaštel Štafilić – Nehaj	117 - 123



Posoli za pH

Magdalena Panić, Dora Bijelić 7. razred;
Mia Cvitak, Anja Bosnić, David Žubčić 8. razred
OŠ Banija, Karlovac
Mentor: Ankica Veseljić

SAŽETAK

U našem projektu uspoređivali smo izmjerenu električnu vodljivost i pH vrijednost uzorka rijeke Kupe i kišnice bez dodatka kuhinjske soli i uz dodatak odgovarajuće količine kuhinjske soli. Postavili smo istraživačko pitanje: Hoće li dodatak kuhinjske soli u ispitivani uzorak značajno utjecati na izmjerenu električnu vodljivost i pH vrijednost vode rijeke Kupe i kišnice? Električnu vodljivost mjerili smo pomoću konduktometra, a pH vrijednost pomoću pH metra i univerzalnog pH indikator papira. pH vrijednosti uzorka rijeke Kupe mjerili smo jednom tjedno, a kišnice kada je količina oborine bila minimalno 30 ml. Da bismo utvrdili postoje li značajne razlike u izmjerenim vrijednostima električne vodljivosti i pH vrijednosti u posoljenom i neposoljenom uzorku koristili smo statističke testove koji su pokazali da dodatak kuhinjske soli u riječnu vodu i kišnicu značajno utječe na izmjerenu električnu vodljivost, čime nismo potvrdili svoju hipotezu. Također, testovi su pokazali da dodatak kuhinjske soli u uzorce nije značajno utjecao na izmjerenu pH vrijednost. Smatramo kako bi trebalo proširiti ovo istraživanje s većim brojem uzoraka iz različitih dijelova svijeta zbog veće pouzdanosti dobivenih rezultata mjerenja te bi se onda moglo reći je li potrebno soliti uzorak prije mjerjenja pH vrijednosti.

Ključne riječi: pH vrijednost; električna vodljivost; GLOBE protokol

UVOD

Tema naša zadnja dva istraživačka projekta bilo je mjerenje količine i fizikalno-kemijskih karakteristika oborina pa smo proučavali i primijenili GLOBE protokole za oborine dostupne na globe.gov (2019). Prema uputama u GLOBE protokolu za mjerenje pH oborina, treba najprije izmjeriti električnu vodljivost uzorka i ako je ona manja od $200 \mu\text{S}/\text{cm}$ potrebno je u uzorak prije mjerenja dodati određenu količinu kuhinjske soli i tek nakon toga izmjeriti pH vrijednost. Također smo uočili da kod unosa pH vrijednosti u hidrološku bazu podataka imamo mogućnost unosa vrijednosti električne vodljivosti, odnosno pH vrijednosti izmjerene metodom dodavanja soli. To je pobudilo naš interes te smo htjeli istražiti kako će dodatak kuhinjske soli utjecati na izmjerenu pH vrijednost.

Postavili smo istraživačko pitanje: Hoće li dodatak kuhinjske soli u ispitivani uzorak značajno utjecati na izmjerenu električnu vodljivost i pH vrijednost vode rijeke Kupe i kišnice?

Naša hipoteza je da će izmjerena električna vodljivost i pH vrijednost neposoljenog i posoljenog uzorka riječne vode i kišnice biti u okviru preciznosti mjernih instrumenata.

METODE

pH vrijednost otopina mjerili smo na dva načina: pomoću pH metra *HANNA instruments*, koji ima staklenu elektrodu koja se sastoji se od staklene membrane, unutarnje referentne elektrode (Ag/AgCl) i unutarnje otopine ($\text{HCl } 0,1 \text{ mol}/\text{dm}^3$) s preciznošću $0,01 \text{ pH}$ i točnošću instrumenta $\pm 0,05$ i univerzalnog pH indikator papira *Macherey-Nagel* s rasponom pH mjerne skale od 6,4 do 8,6 s podjeljkom od 0,2 mjerne jedinice. Prije svakog mjerenja kalibrirali smo pH metar u kalibracijskim otopinama $\text{pH} = 4,01$, $\text{pH} = 6,86$ i $\text{pH} = 9,18$. Kalibracijske otopine smo priređivali otapanjem standardnih pufera u 250 ml destilirane vode pri 25°C .

Mjerili smo pH vrijednost rijeke Kupe i kišnice. pH vrijednosti uzorka rijeke Kupe mjerili smo jednom tjedno, a kišnice kada je količina oborine bila minimalno 30 ml. Svako mjerenje ponovili smo tri puta.



Količina soli koja se dodaje u uzorak prema GLOBE protokolu prije mjerena pH vrijednosti određena je volumenom uzorka. Da bismo mogli uzeti potrebnu količinu soli nacrtali smo u programu dinamičke geometrije Geometer's Sketchpad krugove promjera 5 mm i 4 mm. Ako je količina uzorka bila 50 ml u uzorak smo stavili količinu soli koja stane u krug promjera 5 mm, a ako je količina uzorka bila 30 ml u uzorak smo stavili količinu soli koja stane u krug promjera 4 mm.

Pomoću konduktometra (koji je tvornički kalibriran i automatski podešava temperaturu) svakom uzorku prije mjerena pH vrijednosti izmjerili smo ukupnu količinu otopljene tvari (TDS), odnosno ukupnu količinu iona u uzorku prije dodatka soli i nakon dodatka soli izraženu u ppm. Dobivenu vrijednost preračunali smo u električnu vodljivost po formuli: električna vodljivost ($\mu\text{S}/\text{cm}$) = TDS (ppm) : 0,67. Izračunali smo srednje vrijednosti rezultata mjerena električne vodljivosti i pH vrijednosti tj. aritmetičku sredinu tako da smo sve vrijednosti zbrojili i taj zbroj podijelili s brojem mjerena. Da bismo procijenili koliko srednja vrijednost dobro predstavlja stvarne rezultate mjerena električne vodljivosti i pH vrijednosti, izračunali smo odstupanje od srednje vrijednosti odnosno standardnu devijaciju svih mjerena svakog parametra. Dobivenu apsolutnu vrijednost koja najviše odstupa od srednje vrijednosti zapisali smo kao maksimalnu apsolutnu pogrešku.

Da bismo utvrdili postoje li značajne razlike u izmjerenim vrijednostima električne vodljivosti i pH vrijednosti u posoljenom i neposoljenom uzorku koristili smo statističke testove. Statističkim testovima testirali smo nultu hipotezu, koja glasi da razlika u izmjerenoj električnoj vodljivosti i pH vrijednosti između posoljenog i neposoljenog uzorka ne postoji. Kako bi se testirala nulta hipoteza, najprije smo proveli F-test kojim smo uspoređivali odstupanja izmjerene električne vodljivosti i pH od srednje vrijednosti, a nakon njega smo proveli t-test kojim smo uspoređivali izmjerene srednje vrijednosti električne vodljivosti i pH posoljenog i neposoljenog uzorka.

REZULTATI

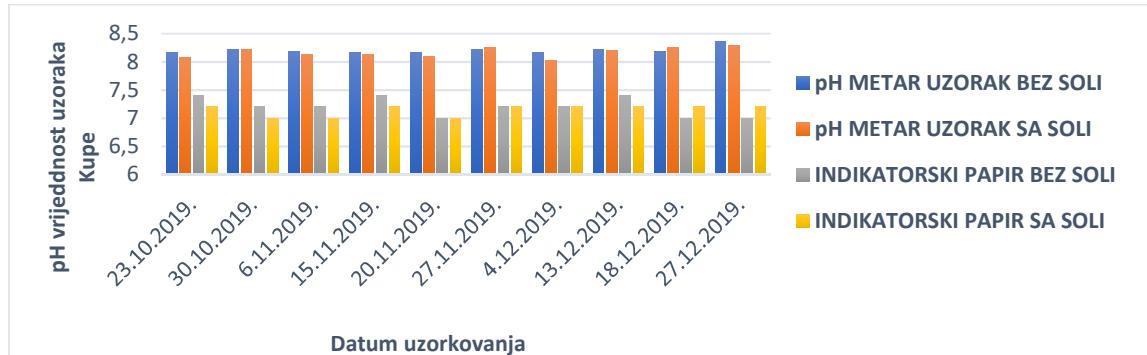
Električnu vodljivost rijeke Kupe izmjerili smo 10 puta (tablica 1). Najmanja izmjerena električna vodljivost u uzorku Kupe bez soli bila je 135,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$, a najveća 191,6 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Dodatkom soli u uzorak povećava se izmjerena električna vodljivost svih uzoraka i pri svakom mjerenu povećanje je za više od 150 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Tablica 1. Prikaz srednje vrijednosti rezultata mjerena i srednje apsolutne pogreške električne vodljivosti i pH uzorka rijeke Kupe

DATUM	ELEKTRIČNA VODLJIVOST BEZ SOLI/ $\mu\text{S}/\text{cm}$	ELEKTRIČNA VODLJIVOST SA SOLI/ $\mu\text{S}/\text{cm}$	pH pH METAR UZORAK BEZ SOLI	pH pH METAR UZORAK SA SOLI	pH UNIVERZALNI INDIKATORSKI PAPIR UZORAK BEZ SOLI	pH UNIVERZALNI INDIKATORSKI PAPIR UZORAK SA SOLI
23.10.2019.	183,3 \pm 0,6	352,3 \pm 0,6	8,17 \pm 0,01	8,08 \pm 0,01	7,4 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0
30.10.2019.	175,7 \pm 0,6	349,3 \pm 0,6	8,21 \pm 0,01	8,22 \pm 0,00	7,2 \pm 0,0	7,0 \pm 0,0
6.11.2019.	135,3 \pm 0,6	410,6 \pm 0,6	8,19 \pm 0,00	8,14 \pm 0,00	7,2 \pm 0,0	7,0 \pm 0,0
15.11.2019.	191,6 \pm 0,6	384,0 \pm 0,0	8,17 \pm 0,01	8,13 \pm 0,01	7,4 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0
20.11.2019.	185,3 \pm 0,6	362 \pm 1,0	8,17 \pm 0,00	8,09 \pm 0,01	7,0 \pm 0,0	7,0 \pm 0,0
27.11.2019.	145,3 \pm 0,6	345,3 \pm 1,2	8,21 \pm 0,00	8,26 \pm 0,00	7,2 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0
4.12.2019.	143,0 \pm 0,0	293,0 \pm 1,0	8,16 \pm 0,01	8,03 \pm 0,01	7,2 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0
13.12.2019.	140,6 \pm 1,2	403,0 \pm 1,0	8,22 \pm 0,00	8,20 \pm 0,00	7,4 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0
18.12.2019.	175,0 \pm 0,0	492,6 \pm 0,6	8,18 \pm 0,00	8,26 \pm 0,00	7,0 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0
27.12.2019.	136,0 \pm 1,0	400,3 \pm 0,6	8,36 \pm 0,00	8,29 \pm 0,01	7,0 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0



Statističkim F testom izračunali smo da je $F= 5,39 > F_{\text{critical one-tail}} = 3,18$, čime zaključujemo da se odstupanja od srednje vrijednosti električne vodljivosti između posoljenog i neposoljenog uzorka vode rijeke Kupe značajno razlikuju. T test je pokazao da je $t_{\text{stat}} = 11,93 > t_{\text{critical two-tail}} = 2,18$ pa zaključujemo da postoje značajne razlike između izmjerениh srednjih vrijednosti električne vodljivosti posoljenog i neposoljenog uzorka.



Slika 1. Srednja pH vrijednost uzorka rijeke Kupe prije i nakon dodatka soli

Najmanja izmjerena pH vrijednost uzorka s pH metrom bez soli bila je 8,16, a najveća 8,36. Dodatkom soli u uzorak najmanja izmjerena pH vrijednost bila je 8,03, a najveća 8,29. Najveća razlika izmjerenih pH vrijednosti bez soli i sa soli iznosila je -0,09. Od provedenih deset mjerena, dodatkom soli, osam puta se izmjerena pH vrijednost uzorka smanjila, a dva puta povećala. Izmjerene pH vrijednosti svih uzoraka rijeke Kupe su u blago lužnatom području.

Najmanja izmjerena pH vrijednost uzorka s univerzalnim indikatorskim papirom bez soli bila je 7,0, a najveća 7,4. Dodatkom soli u uzorak najmanja izmjerena pH vrijednost bila je 7,0, a najveća 7,2. Najveća razlika izmjerenih pH vrijednosti bez soli i sa soli iznosila je $\pm 0,2$. Od provedenih deset mjerena, dodatkom soli, pet puta se izmjerena pH vrijednost uzorka smanjila, dva puta povećala i tri puta ostala ista. Izmjerene pH vrijednosti svih uzoraka rijeke Kupe su u blago lužnatom području.

F-test za izmjerene pH vrijednosti rijeke Kupe pomoću pH metra pokazao je da je $F=2,29 < F_{\text{critical one-tail}} = 3,18$, čime zaključujemo da se odstupanja od srednje vrijednosti pH neposoljenog i posoljenog uzorka ne razlikuju. T test je pokazao da je $t_{\text{stat}} = -1,01 < t_{\text{critical two-tail}} = 2,18$ pa zaključujemo da nema značajne razlike između pH vrijednosti posoljenog i neposoljenog uzorka rijeke Kupe s obzirom na srednje vrijednosti pH.

F-test za izmjerene pH vrijednosti pomoću univerzalnog pH indikator papira rijeke Kupe je pokazao da je $F=2,29 < F_{\text{critical one-tail}} = 3,18$, čime zaključujemo da se odstupanja od srednje vrijednosti pH neposoljenog i posoljenog uzorka ne razlikuju. T test je pokazao da je $t_{\text{stat}} = 1 < t_{\text{critical two-tail}} = 2,13$ pa zaključujemo da nema značajne razlike između pH vrijednosti posoljenog i neposoljenog uzorka rijeke Kupe s obzirom na srednje vrijednosti pH.

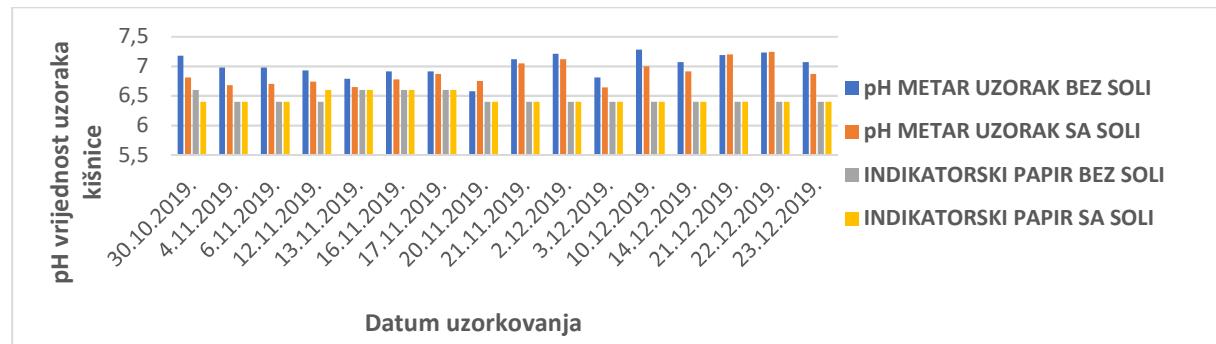
Električnu vodljivost kišnice izmjerili smo 16 puta (tablica 2). Najmanja izmjerena električna vodljivost kišnice u uzorku bez soli bila je $6,0 \mu\text{S}/\text{cm}$, a najveća $43,0 \mu\text{S}/\text{cm}$. Dodatkom soli u uzorak povećava se izmjerena električna vodljivost svih uzoraka i pri svakom mjerenu povećanje je za više od $230 \mu\text{S}/\text{cm}$.



Tablica 2. Prikaz srednje vrijednosti rezultata i srednje apsolutne pogreške mjerjenja električne vodljivosti i pH uzorka kišnice

DATUM	ELEKTRIČNA VODLJIVOST BEZ SOLI/ µS/cm	ELEKTRIČNA VODLJIVOST SA SOLI/ µS/cm	pH pH METAR UZORAK BEZ SOLI	pH pH METAR UZORAK SA SOLI	pH UNIVERZALNI INDIKATORSKI PAPIR UZORAK BEZ SOLI	pH UNIVERZALNI INDIKATORSKI PAPIR UZORAK SA SOLI
30.10.2019.	21,0 ± 1,0	264,7 ± 0,6	7,18 ± 0,01	6,81 ± 0,00	6,6 ± 0,0	6,4 ± 0,0
4.11.2019.	15,0 ± 1,0	277,6 ± 0,6	6,98 ± 0,00	6,68 ± 0,00	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0
6.11.2019.	10,0 ± 1,0	280,3 ± 0,6	6,98 ± 0,01	6,70 ± 0,01	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0
12.11.2019.	35,3 ± 0,6	310,0 ± 1,0	6,93 ± 0,01	6,74 ± 0,00	6,4 ± 0,0	6,6 ± 0,0
13.11.2019.	15,0 ± 1,0	276,0 ± 1,0	6,79 ± 0,01	6,65 ± 0,00	6,6 ± 0,0	6,6 ± 0,0
16.11.2019.	28,3 ± 0,6	251,3 ± 0,6	6,91 ± 0,00	6,78 ± 0,00	6,6 ± 0,0	6,6 ± 0,0
17.11.2019	23,0 ± 1,0	253,0 ± 1,0	6,91 ± 0,01	6,87 ± 0,01	6,6 ± 0,0	6,6 ± 0,0
20.11.2019.	21,0 ± 1,0	254,6 ± 0,6	6,58 ± 0,00	6,75 ± 0,01	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0
21.11.2019.	22,0 ± 0,0	270,0 ± 0,0	7,12 ± 0,00	7,05 ± 0,01	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0
2.12.2019.	43,0 ± 0,6	337,0 ± 0,0	7,21 ± 0,01	7,12 ± 0,01	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0
3.12.2019.	9,0 ± 1,0	273,0 ± 0,0	6,81 ± 0,01	6,64 ± 0,00	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0
10.12.2019.	10,6 ± 0,6	278,6 ± 0,6	7,28 ± 0,01	7,00 ± 0,00	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0
14.12.2019.	6,3 ± 0,6	346,3 ± 0,6	7,07 ± 0,01	6,91 ± 0,00	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0
21.12.2019.	22,0 ± 0,0	261,0 ± 0,0	7,19 ± 0,01	7,20 ± 0,00	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0
22.12.2019.	9,3 ± 0,6	342,0 ± 0,0	7,23 ± 0,00	7,24 ± 0,00	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0
23.12.2019.	6,0 ± 1,0	472,0 ± 0,0	7,07 ± 0,01	6,87 ± 0,00	6,4 ± 0,0	6,4 ± 0,0

Statističkim F testom izračunali smo da je $F = 28,51 > F_{\text{critical one-tail}} = 24,03$, čime zaključujemo da se odstupanja od srednje vrijednosti električne vodljivosti između posoljenog i neposoljenog uzorka kišnice značajno razlikuju. T test je pokazao da je $t_{\text{stat}} = 19,38 > t_{\text{critical two-tail}} = 2,12$ pa zaključujemo da postoje značajne razlike između izmjerenih srednjih vrijednosti električne vodljivosti posoljenog i neposoljenog uzorka.



Slika 2. Srednja pH vrijednost uzorka kišnice prije i nakon dodatka soli

RASPRAVA

Električna vodljivost je indirektna mjera za ukupnu količinu otopljenih tvari u vodi. Određivanjem električne vodljivosti u uzorku vode mjerimo sposobnost provođenje struje u našem uzorku (globe.gov, 2019).

pH otopina eksperimentalno se određuje pomoću univerzalnog indikatorskog papira koji pokazuje različitu boju pri različitim vrijednostima pH. Mnogo preciznije pH otopina određuje se pH metrom koji je zapravo precizni voltmetar koji mjeri razliku potencijala staklene elektrode u otopini nepoznatog pH



u odnosu na standardnu elektrodu. Razlika potencijala elektroda ovisi o koncentraciji oksonijevih iona $\text{H}_3\text{O}^+(\text{aq})$ i proporcionalan je pH.

Kako kroz otopinu struju mogu prenosići samo ioni, proizlazi da je čista voda slabo disocirana. U čistoj vodi ioni $\text{H}_3\text{O}^+(\text{aq})$ i $\text{OH}^-(\text{aq})$ potječe samo od disocijacije vode. Dodatkom kiseline povećava se koncentracija oksonijevih iona $\text{H}_3\text{O}^+(\text{aq})$, a smanjuje koncentraciju hidroksidnih $\text{OH}^-(\text{aq})$. Iz praktičnih razloga kemičari su uveli zasebnu skalu za izražavanje koncentracije $\text{H}_3\text{O}^+(\text{aq})$ iona koja je definirana sljedećim izrazom ($\text{pH} = -\log c(\text{H}_3\text{O}^+)$). Otopine u kojima je koncentracija $\text{H}_3\text{O}^+(\text{aq})$, jednaka koncentraciji $\text{OH}^-(\text{aq})$ nazivamo neutralnim. Odavde proizlazi da je za neutralnu otopinu $\text{pH} = 7$. Kisele otopine imaju pH manji od 7, a lužnate veći od 7 (Sikirica i Korpar-Čolig, 1991).

Vodene otopine soli koje su nastale neutralizacijom jakih kiselina jakim lužinama uvijek su neutralne. Takva sol je i natrijev klorid (kuhinjska sol) koje je nastala u reakciji jake klorovodične kiseline i jake natrijeve lužine (Sikirica i Korpar-Čolig, 1991).

Analizom naših rezultata mjerjenja električne vodljivosti rijeke Kupe i kišnice uočavamo da je svaki puta električna vodljivost bila manja od $200 \mu\text{S}/\text{cm}$ pa je u uzorce prema GLOBE protokolu bilo potrebno dodati kuhinjsku sol. Nakon dodatka soli, električna vodljivost u svim uzorcima se povećala.

Statistički testovi su pokazali da dodatak kuhinjske soli u riječnu vodu i kišnicu značajno utječe na izmjerenu električnu vodljivost, čime nismo potvrdili svoju hipotezu.

Zaključujemo da dodatkom kuhinjske soli u uzorak, ona se razlaže na slobodne ione i povećava njihovu koncentraciju te dolazi do značajnog povećanja električne vodljivosti u uzorku riječne vode i kišnice.

Statistički testovi su pokazali da dodatak kuhinjske soli u uzorce nije značajno utjecao na izmjerenu pH vrijednost riječne vode i kišnice čime smo potvrdili svoju hipotezu.

Točnost mjerjenja pH vrijednosti pomoću pH listića i pH metra ovisi o električnoj vodljivosti i ako je ona manja od $200 \mu\text{S}/\text{cm}$, postoji rizik da izmjereni podaci nisu točni (globe.gov, 2019).

Kako bi se što preciznije mogla odrediti pH vrijednost u otopini, moraju biti prisutni i drugi ioni, kako bi se stvorio dovoljan prolaz struje da se mjerjenje izvrši. Kada je koncentracija iona u otopini premala, pH-metar sporo očitava i ako je očitanje jako sporo ostane na pogrešnom mjerenu (globe.gov, 2019).

Prilikom izvođenja mjerjenja pH vrijednosti, subjektivno smo zapazili da je pH-metru trebalo puno više vremena da ustali mjerenu vrijednost ako uzorak nije bio soljen.

Smatramo da uzrok promjene pH vrijednosti nije bio dodatak soli u uzorak jer je njena vodena otopina pH-neutralna. Njenim otapanjem u vodi nastaju hidratizirani natrijevi i kloridni ioni. Ti ioni ne reagiraju s vodom pa se u vodi ne mijenja koncentracija oksonijevi $\text{H}_3\text{O}^+(\text{aq})$ i hidroksidnih $\text{OH}^-(\text{aq})$ iona (Sikirica i Korpar-Čolig, 1991).

Uočavamo da je pri mjerenu pH vrijednosti kišnice i Kupe pomoću univerzalnog pH indikator papira bila uvijek ista razlika od $\pm 0,2$ pH jedinice prije soljenja i nakon soljenja uzorka. Takva razlika je zbog razdjela mjerne skale, jer se pri mjerenu treba (subjektivno) procijeniti boja pH listića, koja se najbolje



poklapa sa skalom boja na univerzalnom indikatorskom papiru. Smatramo da je preciznije mjerjenje pH vrijednosti pomoću mjernog instrumenta pH metra.

ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata rada doneseni su sljedeći zaključci:

- ➊ dodatak kuhinjske soli u riječnu vodu i kišnicu značajno utječe na izmjerenu električnu vodljivost
- ➋ dodatak kuhinjske soli u uzorke nije značajno utjecao na izmjerenu pH vrijednost riječne vode i kišnice.

Iako su statistički testovi pokazali da dodatak kuhinjske soli u uzorke nije značajno utjecao na izmjerenu pH vrijednost riječne vode i kišnice, smatramo kako bi trebalo proširiti ovo istraživanje s većim brojem uzoraka iz različitih dijelova svijeta zbog veće pouzdanosti dobivenih rezultata mjerena te bi se onda moglo reći je li potrebno soliti uzorak prije mjerena pH vrijednosti.

LITERATURA

GLOBE (2019). pH Protocol. <https://www.globe.gov/documents/11865/42e3b8fe-847c-429a-a105-d18691d99e32>,
pristupljeno: 20.2. 2019.

Sikirica M., Korpar-Čolig B. (1991). Priručnik za vježbe iz kemije, II dio svojstva odabralih elemenata i spojeva. Zagreb.



Što je danas na jelovniku

Nadalina Jerčić, 8. razred i Ena Stanić, 8. razred

Osnovna škola Josip Pupačić, Omiš

Mentor: Tamara Banović

SAŽETAK

Razvijanje pravilnih prehrambenih navika u ranoj životnoj dobi preduvjet je za pravilan odnos prema hrani za čitav život. Cilj ovoga rada bio je osvijestiti važnost pravilne prehrane kod učenika i utjecati na poboljšanje njihovih prehrambenih navika tijekom školske marenđe. Istraživanjem je obuhvaćeno osam razrednih odjela, po jedan odjel svakoga razreda, tj. ukupno 172 učenika. U uvodnoj fazi istraživanja među učenicima je proveden anketni upitnik o njihovim prehrambenim navikama, a potom je slijedilo prikupljanje i popisivanje svega što učenici pojedu za vrijeme školske marenđe. Analiza školskih obroka napravljena je pet puta, jednom tjedno tijekom pet tjedana. Za pojedini razredni odjel analiziran je upitnik i sastav školskih obroka te su na temelju dobivenih rezultata osmišljene radionice koje su u trajanju od dva školska sata provedene među učenicima. Na kraju svake radionice učenici su imali priliku kušati za njih pripremljen zdravi obrok koji bi mogao postati zamjena nezdravim namirnicama koje vrlo često konzumiraju tijekom školske marenđe. Primjeri takvih jela objedinjeni su u digitalnu knjižicu recepata koja je dostupna svim učenicima naše škole. U kreiranju e-knjižice recepata sudjelovali su učenici uključeni u istraživanje i njihovi roditelji te se ona neprestano nadopunjuje receptima obroka koji se mogu pripremiti za školsku marenđu. Nakon provedenih radionica i objave knjižice recepata ponovo je napravljena analiza školskog obroka te je proveden završni anketni upitnik kako bi se dobila povratna informacija o utjecaju vršnjačkog poticanja na promjenu loših prehrambenih navika tijekom školske marenđe. Rezultati pokazuju da su učenici u visokom postotku od gotovo 80 % imali loš izbor namirnica za školsku marenđu te da je učestalost konzumacije voća bila manja od 20 %, dok niti jedan učenik za obrok nije imao uključeno povrće. Nakon provedenih edukacija i dostupnosti knjižice s primjerima zdravih obroka kod 85,7 % učenika, prema njihovoj osobnoj procjeni, dogodilo se poboljšanje u izboru namirnica za školsku marenđu.

Ključne riječi: pravilna prehrana, školska marenđa, prekomjerna težina, pretilost

UVOD

Mišljenja smo da je razvijanje pravilnih prehrambenih navika u što ranijoj životnoj dobi preduvjet za pravilan odnos prema hrani za čitav život. Smatramo da je kod djece vrlo važno osvijestiti pravilan izbor namirnica koje koriste u svojoj prehrani jer unosom hrane u svoje tijelo utječemo na zdravlje. Nažalost, važnost pravilne prehrane mnogi ljudi osvijeste tek zbog pojave različitih bolesti koje mogu biti posljedica nepravilne prehrane. Pretilost i prekomjerna težina dovode do ozbiljnih zdravstvenih posljedica te predstavljaju čimbenik rizika za razvoj kroničnih bolesti poput dijabetesa tipa 2, kardiovaskularnih bolesti, bolesti koštano-mišićnog sustava i tumorskih tvorevina (Brajković, 2015).

Pravilna prehrana bi trebala osigurati organizmu sve potrebne tvari za njegov rast, razvoj, rad i obnavljanje. Pritom treba voditi brigu o uravnoteženom odnosu količine, kvalitete i rasporedu unosa, ali i potrošnji hranjivih tvari. Koliko i kojih hranjivih tvari neki organizam treba, ovisi o životnoj dobi, spolu, tjelesnoj masi, fizičkoj aktivnosti te zdravstvenom stanju organizma. Unos hrane trebao bi biti uravnotežen, što znači da je tijekom dana potrebno imati nekoliko manjih obroka: zajutrak, doručak, ručak, užina i večera. Osim toga, hrana treba biti raznovrsna kako bi zadovoljila potrebu organizma za različitim tvarima. Obroci bi trebali sadržavati svježe i cijelovite namirnice. Također je važno, kad god je moguće, jesti lokalnu hranu koja je uzgajana sa što manje različitih dodataka i kemikalija. Potreban unos vitamina i minerala osigurava uzimanje svježeg voća i povrća (Bendelja i sur., 2020).

Planiranje obroka i namirnica trebalo bi slijediti piramidu koja prikazuje odnose zastupljenosti namirnica u pravilnoj prehrani čovjeka kao što je prikazano na slici 1.



Slika 1 Piramida pravilne prehrane (Lopac Groš i Meštrović, 2018)

Prekomjerna tjelesna težina u predškolskoj i školskoj dobi jedan je od vodećih problema današnjice i znatno utječe na opće stanje zdravlja, ali i na psihički razvoj osobe te kao takav privlači interes mnogobrojnih javnozdravstvenih ustanova. Pretila djeca često se suočavaju sa zadirkivanjem vršnjaka zbog debljine i prevelikom kritikom roditelja i odraslih osoba. Prekomjerna tjelesna težina uzrokuje nezadovoljstvo vlastitim izgledom i smanjen stupanj samopoštovanja. Osjećaj manje vrijednosti može uzrokovati depresiju, asocijalno ponašanje i poremećaje u prehrani. U populaciji školske djece povoljno je provoditi preventivne programe jer u tom životnom razdoblju djeca razvijaju stavove i navike za daljnji život (Macavara, 2017). Rezultati istraživanja CroCOSI 2018./2019. pokazuju da 35 % djece dobi od 8,0 do 8,9 godina u Republici Hrvatskoj ima prekomjernu težinu. Prema tim podacima, Hrvatska je među prvih pet europskih zemalja po broju pretile djece. Zabrinjavajući je podatak da svako treće dijete ima problem s debljinom i također ima povećan rizik da će i u odrasloj dobi imati poteškoće s debljinom, ali i da će posljedično, uslijed prekomjerne debljine oboljeti (Musić Milanović i sur., 2021). Uočavanjem i rješavanjem problema od najranije dobi, u pretile odrasle osobe odrast će samo 20 % pretilih četverogodišnjaka, 40 % sedmogodišnjaka će postati pretilo u odrasloj dobi ukoliko problem ne krenemo rješavati na vrijeme, a čak 80 % tinejdžera je izloženo pretilosti u odrasloj dobi jer se problem nije uočio na vrijeme (Gavin i sur., 2007).

Procjena stupnja uhranjenosti ili nutritivnog statusa vrši se na osnovi antropometrijskih, biokemijskih, funkcionalnih, radioloških i kliničkih ispitivanja, a najčešće korišteni antropometrijski indeks je Indeks tjelesne mase (ITM) ili *body mass indeks* (BMI). Od svih poznatih indeksa, indeks tjelesne mase je najuže povezan s količinom prekomjernog masnog tkiva u ljudskom tijelu, a uz to ga je relativno jednostavno izračunati ili očitati iz tablica. Izračun ITM temelji se na omjeru tjelesne mase izražene u kilogramima i kvadrata visine osobe izražene u metrima (Macavara, 2017). Prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije za europsko stanovništvo, vrijednosti preporučenog ITM-a iste su za oba spola, a iznose od 18,5 do 24,9 kg/m². ITM se ne može isto procjenjivati za djecu i odrasle iz razloga što je kod odraslih osoba jedan parametar u jednadžbi konstantan, a to je visina. Nakon što se indeks tjelesne mase izračuna, njegova brojčana vrijednost označava se na CDC BMI (*Clinical growth charts*) grafikonu rasta. Indeks tjelesne mase prikazujemo na osi Y, a dob djeteta na osi X te se dobivene vrijednosti prikazuju percentilnim krivuljama (Montignac, 2005). CDC BMI krivulje koriste se za procjenu težine djece u dobi od 2 do 20 godina, a osim što su specifične za dob, krivulje su specifične za spol te su krivulje za procjenu uhranjenosti dječaka i djevojčica različite. Indeks tjelesne mase na percentilu pokazuje relativni položaj djeteta među djecom istog spola i dobi. Stupanj uhranjenosti kod djeteta procjenjuje se na temelju percentila na kojem se dijete nalazi prema izmjerrenom indeksu tjelesne mase i svojoj dobi i spolu. U tablici 1 je prikazano koje su granice percentila za kategorije uhranjenosti kod djece (Teskera, 2016).



Tablica 1 Prikaz kategorija uhranjenosti prema ITM dobnoj krivulji

STATUS	PERCENTIL
Pothranjenost	< 5. percentila
Normalna tjelesna masa	od 5. do 85. percentila
Prekomerna tjelesna masa	od 85. do 95. percentila
Pretilost	> 95. percentila

Na ovo istraživanje potakla nas je činjenica da u posljednje vrijeme u našem okruženju možemo susresti sve veći broj učenika s povećanom tjelesnom masom. Neki od njih se teško kreću i imaju velike poteškoće prilikom provođenja određenih aktivnosti na satovima Tjelesne i zdravstvene kulture. To povezujemo i s lošim prehrambenim navikama učenika, što se može uočiti i tijekom školskoga odmora kada učenici jedu prekomjerno i konzumiraju nezdrave namirnice. Škola koju pohađamo nema školsku kuhinju niti organiziranu školsku marendu te učenici samostalno od kuće donose hranu za školsku marendu. Zbog uočenog lošeg izbora namirnica za učeničku marendu kod većeg broja učenika, prije nekoliko godina u kućni red naše škole uvršteni su članci o zabrani unošenja nezdravih grickalica te gaziranih i zasladdenih napitaka u školu. Brine se o organizaciji i provođenju edukacija o važnosti pravilne prehrane, ali mišljenja smo da učenici netom po edukaciji kratko pripaze na svoju prehranu, ali se vrlo brzo vrate lošim prehrambenim navikama. Dakle, unatoč tome što se o pravilnoj prehrani uči iz školskih udžbenika i unatoč tome što se u našoj školi o tome dosta govori, smatramo da je vršnjačko djelovanje među učenicima jako važno te da ako o ovoj temi učenici razgovaraju međusobno možemo utjecati na razvijanje pravilnih prehrambenih navika, barem kod nekih učenika.

Glavni cilj našega rada je osvijestiti važnost pravilne prehrane kod učenika naše škole te potaknuti učenike na promjenu prehrambenih navika tijekom školske marenade.

Na temelju pretraživanja literature i opažanja stanja u školi tijekom školske marenade definirali smo sljedeće hipoteze:

- Postotak učenika s prekomjernom težinom i pretilošću u našoj školi u skladu je s rezultatima dobivenim u istraživanju CroCOSI 2018./2019. godine za učenike u Republici Hrvatskoj, odnosno svako treće dijete ima prekomjernu težinu ili pretlost.
- Više od 50 % ispitanika koji sudjeluju u istraživanju za školsku marendu bira nezdrave namirnice koje uključuju proizvode od bijelog brašna, šećera, soli i nezdravih masnoća.
- Manje od 20 % ispitanih učenika za obrok u školi bira voće i/ili povrće.
- Nakon provedene vršnjačke edukacije i objave knjižice recepata „Što je danas na jelovniku?“ većina učenika promijenit će i poboljšati svoje prehrambene navike tijekom školske marenade.

METODE

Istraživanje je provedeno među učenicima Osnovne škole Josip Pupačić iz Omiša u razdoblju od listopada 2021. do početka ožujka 2022. godine. Za istraživanje je nasumično odabran po jedan razredni odjeli od prvog do osmog razreda tj. ukupno 8 razrednih odjela. Ukupan broj učenika koji je sudjelovao u ovom istraživanju je 172, što čini 18,5 % populacije naše škole. Broj učenika razredne nastave obuhvaćeni ovim istraživanjem bio je 81, dok je broj učenika predmetne nastave bio 91. Istraživanje su osmisile autorice projekta samostalno, ono se provodilo u nekoliko faza, a hodogram provedenih aktivnosti prikazan je na slici 2.



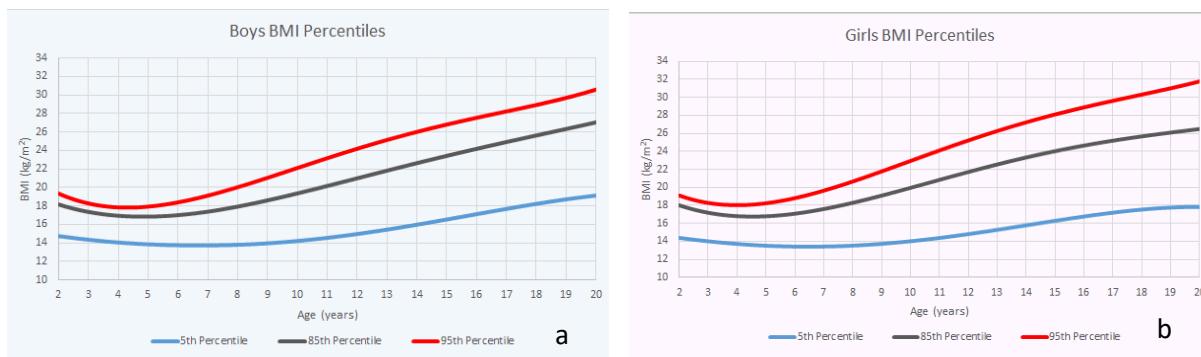
Slika 2 Hodogram aktivnosti provedenih tijekom istraživanja

Analiza školskih obroka

Prvi dio istraživanja provodio se u listopadu i studenome 2021. godine. Pregled i analiza obroka koje učenici pojedu tijekom školske marenje, za svaki razredni odjel napravljena je jednom tjedno tijekom pet tjedana. Dan u tjednu nasumično je odabran i bio je promjenjiv, ali na način da je kroz pet tjedana bio zastupljen svaki dan u tjednu od ponedjeljka do petka. Analizu sastava školskih marenja napravile su autorice projekta. U pripremljenu tablicu (prilog 1) su unesene sve namirnice koje su sadržane u školskim obrocima koje su učenici toga dana ponijeli u školu. Obroci su analizirani za svaki razredni odjel zasebno i to na način da su sve namirnice prikupljene tijekom pregledavanja marenje razvrstane u grupe jednakih ili sličnih obroka, a to su: sendvič, peciva, domaći kolači, grickalice, voće, povrće, mliječni proizvodi i ostalo. Potom se analizirao i sastav sendviča i to na način da se procijenila vrsta brašna od kojega je kruh ili pecivo napravljeno te sadržaj sendviča. Do podataka se dolazilo pregledom školske marenje i razgovorom s učenicima. Svi podaci su obrađeni i prikazani grafikonima i tablicama za svaki razredni odjel zasebno i sumarno za sve učenike koji su sudjelovali u istraživanju.

Uvodni anketni upitnik

Na samom početku istraživanja, u razdoblju pregleda i analize školske marenje, u svakom razrednom odjelu proveden je i anonimni anketni upitnik o prehrambenim navikama učenika. Upitnik su pripremili i provele autorice projekta. Za učenike razredne nastave upitnik sadrži 8 pitanja, napisan je na listiću kojega su učenici popunjavali na satu (prilog 2), dok je za učenike predmetne nastave upitnik izrađen korištenjem aplikacije Microsoft Forms i učenici su mu pristupali putem poveznice ili skeniranjem QR koda (prilog 3). Upitnik za učenike predmetne nastave, uz 8 istih pitanja koje su popunjavali učenici nižih razreda, sadrži i deveto pitanje koje se odnosi na vrijednost indeksa tjelesne mase (ITM). Učenici su masu u kg mjerili digitalnom vagom, dok su visinu u cm mjerili krojačkim metrom pomažući jedni drugima uz kontrolu autorica projekta. Korištenjem kalkulatora izračunavalni su vrijednost vlastitog ITM prema formuli: $ITM = m/h^2 [kg/m^2]$. Dobivena vrijednost unesena je kao odgovor na posljednje, deveto pitanje. ITM za učenike razredne nastave računao se nakon što su od strane njihovih učiteljica ustupljeni podaci o težini i visini učenika. Uhranjenost učenika i udio zastupljenosti učenika u pojedinim težinskim kategorijama određena je korištenjem dobivenih vrijednosti ITM (BMI) čija se brojčana vrijednost označila na CDC BMI grafikonu rasta za dob i spol kako bi se procijenio percentilni rang (slika 3).



Slika 3 CDC BMI grafikon za procjenu uhranjenosti djece i mladih za a) dječake i b) djevojčice (Armano, 2019)

Svi odgovori dobiveni upitnikom su analizirani, a rezultati su prikazani grafikonima i tablicama.

Vršnjačka edukacija i radionice

Nakon analize obroka školske marenđe i anketnih upitnika dobiveni su rezultati za svaki razredni odjel. Na temelju dobivenih rezultata za učenike su pripremljena predavanja i radionice kako bi se vršnjačkim utjecajem potaklo učenike na promjenu loših prehrambenih navika. Radionice su pripremljene korištenjem dostupne literature, osmislice su ih i provele učenice osmog razreda, autorice projekta, a iste su održane tijekom prosinca 2021. te siječnja i veljače 2022. godine na nastavi Prirode i društva, Prirode, Biologije ili Sata razrednika. Trajanje radionice bilo je 90 minuta.

Početni dio sata bio je jednak za sve razredne odjele. Učenicima su prikazani rezultati analiziranih školskih obroka koji su popisani tijekom listopada i studenoga, kao i rezultati anketnog upitnika za razredni odjel u kojem se edukacija provodila. Za prikaz rezultata korištene su prezentacije izrađene u Power Pointu (prilog 4). Naglasak je bio stavljen na razgovor i prepoznavanje loših namirnica koje su učenici birali za školsku marendu, a izdvojeni su primjeri dobro odabralih obroka koji su upisani u digitalnu knjižicu recepata s dobrim primjerima školskih marendi. Daljnji tijek vršnjačkog poučavanja temeljen je na rezultatima dobivenim za taj razredni odjel, a sadržavao je osnovne smjernice pravilne prehrane i izbjegavanje loših prehrambene navike. Potom je slijedio grupni rad u kojem su učenici sudjelovali u pripremljenim radionicama i to kako slijedi u tablici 2.

Tablica 2 Popis radionica provedenih tijekom vršnjačkih edukacija o pravilnoj prehrani

RAZRED	RADIONICE
1.	Oboji i razvrstaj (Prilog 5)
2.	Pravilno razvrstaj i Voće na tanjuru (Prilog 6)
3. i 4.	Piramida pravilne prehrane (Prilog 7)
5.	Skrivene masnoće i šećeri (Prilog 8)
6.	Koliko je masan tvoj čips? (Prilog 9)
7. i 8.	Pokusima do znanja - dokazivanje hranjivih tvari u namirnicama (Prilog 10)

Nakon provedene radionice, provedena je i kratka evaluacija kako bi se dobila povratna informacija o kvaliteti vršnjačkog poučavanja i razumijevanju sadržaja s kojima su se učenici tijekom edukacije upoznali. Evaluacija je provedena izlaznom karticom, osim pitanja koja su se odnosila na razumijevanje sadržaja, tri pitanja su se odnosila na organizaciju i korist od vršnjačke edukacije. Na samom kraju sata učenici su kušali pripremljene "zdrave obroke" koji su se predložili kao alternativa nezdravim školskim obrocima koji su se uočili pri analizi školske marenđe. Jelo su pripremili autorice projekta, a jela su odabrana pretraživanjem literature te su recepti i način pripreme predstavljeni učenicima. Također,



autorice su pozvale učenike da osmisle i provedu zajedničke aktivnosti u razrednom odjelu kako bi se kvaliteta školskih obroka poboljšala.

Digitalna knjižica recepata

Jela pripremljena za učenike objedinjena su u digitalnu knjižicu recepata koja je izrađena korištenjem digitalnog alata Book Creator. S predstavnikom učenika svakog razrednog odjela koji je sudjelovao u istraživanju podijeljen je kod kako bi imao pristup digitalnoj knjižici i mogućnost unošenja svih recepata koji su prikupljeni u razrednom odjelu, a smatraju da njima mogu pomoći drugima u izradi pravilnih školskih obroka. U knjižicu su uvršteni i svi oni obroci koji su analizom školskih obroka uočeni kao dobri i poželjni. Ova knjižica i dalje se nadopunjuje receptima i jelovnicima koji i dalje pristižu. Knjižica je dostupna svim učenicima naše škole putem poveznice, a bit će objavljena i na mrežnim stranicama škole.

Ponovljena analiza školskog obroka

Nakon provedenih edukacija i objave digitalne knjižice recepata s primjerima školskih jelovnika, ponovno je napravljena analiza namirnica školske marenđe. Analiza je napravljena na isti način kao i u koraku 1 ovoga istraživanja. Pregled marendi nije bio najavljen i proveden je istoga dana za sve razredne odjele koji su sudjelovali u istraživanju koristeći obrazac za prikupljanje sastava školske marenđe (Prilog 1).

Završni anketni upitnik

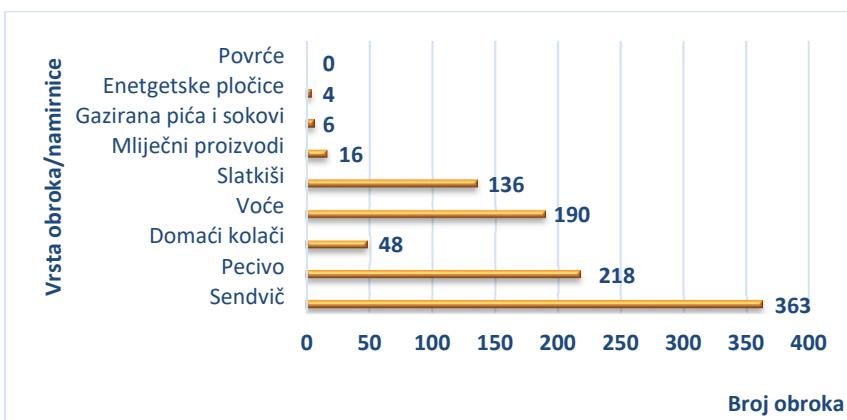
Na dan pregleda i analize posljednje školske marenđe, 1. ožujka 2022., proveden je među svim sudionicima projekta završni upitnik kako bi se dobila povratna informacija o učinkovitosti vršnjačkog poticaja na pravilnu prehranu tijekom školske marenđe. Upitnik je izrađen korištenjem Google obrasca, sadržavao je 4 pitanja, a učenici su mu pristupali putem poveznice (prilog 11). Učenici su ispitani koji razred pohađaju i je li projekt utjecao na promjenu njihovih prehrabnenih navika tijekom školske marenđe. Ukoliko je odgovor pozitivan učenici su mogli opisati na koji način se kod njih osobno dogodila promjena, a na koji način unutar čitavog razrednog odjela.

REZULTATI

Rezultati analize školskih obroka

Namirnice koje učenici konzumiraju tijekom školskog odmora su popisane i razvrstane u grupe jednakih ili sličnih obroka, a to su: sendvič, pecivo, domaći kolači, grickalice, voće, povrće, mliječni proizvodi i ostalo. Ukupan broj popisanih školskih marendi bio je 793, a broj obroka 981 jer su neki učenici za školsku marenđu nosili i nekoliko namirnica koje pripadaju različitim skupinama hrane. Ukupan broj obroka prema skupinama namirnica prikazan je slikom 4.

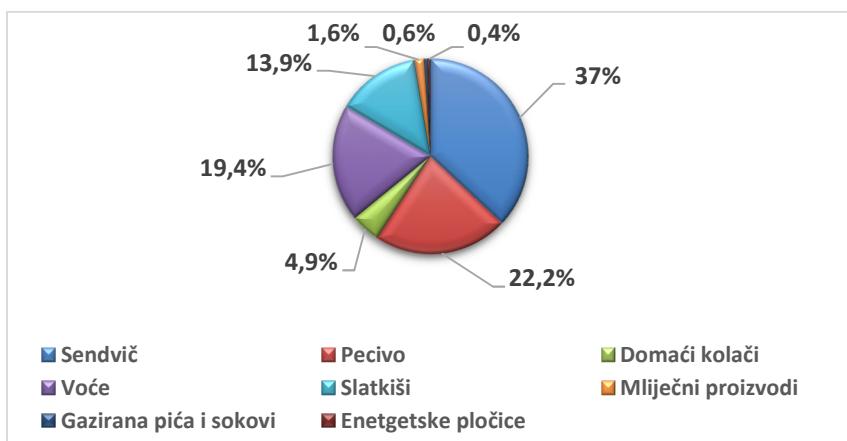
Iz grafičkog je prikaza vidljivo da najveći broj učenika za školski obrok donosi sendvič, potom različita peciva, a nakon toga voće i slatkiše. Vidljivo je da niti jedan učenik tijekom ovoga istraživanja nije za obrok imao uključeno povrće.



Slika 4 Sastav školske marenđe tijekom pet analiza obroka za osam razrednih odjela
(ukupan broj obroka prema skupinama namirnica)

Izračunat je udio pojedinih skupina jela te je njihov postotak prikazan dijagramom na slici 5.

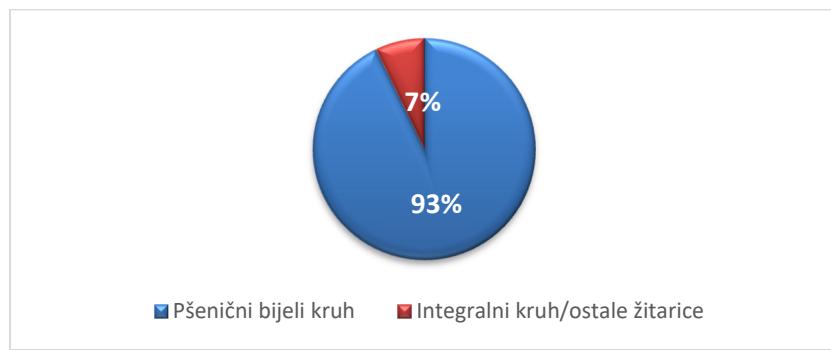
U sastavu svih popisanih obroka, osim u voću, prisutne su namirnice poput bijelog brašna, šećera, soli i masnoća te je ukupan postotak loših obroka među učenicima tijekom petotjednog ispitivanja 80,6 %.



Slika 5 Sastav školske marenđe u postocima

Analizom kruha i publica od kojih su napravljeni sendviči, a koji su najzastupljenije jelo tijekom školske marenđe, uočava se jednoličnost u izboru što je vidljivo na slici 6.

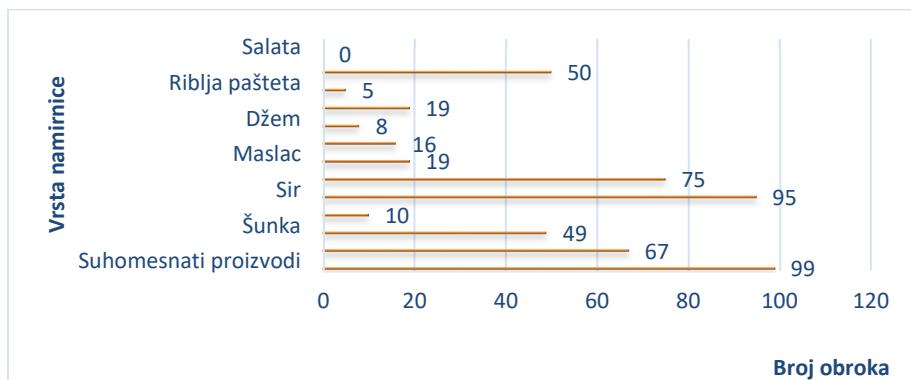
Učenici u velikom postotku (93 %) konzumiraju bijeli pšenični kruh, dok na ostale vrste kruha otpada svega 7 %.



Slika 6 Vrsta kruha za sendviče tijekom školske marenđe



Popisivanjem svih namirnica koji su činili sendvič dobiveni su sljedeći podaci koji su prikazani slikom 7. Suhomesnati proizvodi i sirevi najčešće su namirnice koje su zastupljene u školskim sendvičima kod većine razrednih odjela, a potom slijede sirni namazi i razne vrste svježih salama. Uz sirni namaz, može se uočiti kao primjer dobrog izbora za sendvič, med i džem. Te namirnice nalazimo samo u jednom razrednom odjelu i to kod učenika trećeg razreda. Nasuprot tome, većina od 50 prebrojanih čokoladnih namaza bilo je prisutno u sendvičima učenika četvrtoga razreda.



Slika 7 Sastav učeničkih sendviča za vrijeme školske marenđe

Rezultati analize uvodnog anketnog upitnika

Anketni upitnik popunili su svi učenici obuhvaćeni istraživanjem, njih 172, 90 djevojčica i 82 dječaka. Broj anketiranih učenika po razredima prikazan je u tablici 3.

Tablica 3 Broj učenika po razrednom odjelu koji su sudjelovali u popunjavanju anketnog upitnika

Razredni odjel	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Broj učenika	23	17	19	22	24	24	21	22

Na pitanje koliko obroka pojedu u jednom danu, većina učenika je odgovorila tri ili četiri obroka, a preporučenih pet obroka u danu ima 27 % ispitanih učenika. Zabrinjavajući je podatak da među ispitanicima imamo tri učenika koji pojedu jedan ili dva obroka u danu, ali i dva učenika koji imaju devet obroka dnevno. Analize svih obroka nismo bile u mogućnosti napraviti, ali zanimljivo bi bilo usporediti indeks tjelesne mase učenika s brojem obroka koje učenici pojedu tijekom dana jer postoji mogućnost da je količina unesene hrane kroz devet obroka manja od količine hrane unesene u organizam u manjem broju obroka.

Grafički prikaz broja obroka koje učenici pojedu tijekom dana prikazan je na slici 8.



Slika 8 Postotak broja obroka koje anketirani učenici (N = 172) pojedu tijekom dana

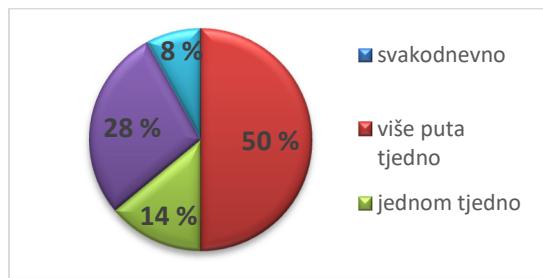


Na pitanje koje im je najdraže jelo, učenici su u većini slučajeva (72 % ispitanika) napisali jela označena slikom 9a), a njih 8% napisalo je jela označena slikom 9b). Ovo pitanje bilo je otvorenoga tipa te su učenici imali mogućnost upisivanja svojih odgovora. 20% odgovora bilo je neupotrebljivo za analizu jer su učenici upisivali više jela, nisu napisali odgovor ili nisu razumjeli pitanje te su kao odgovor napisali vrstu obroka, primjerice ručak, a ne vrstu jela.



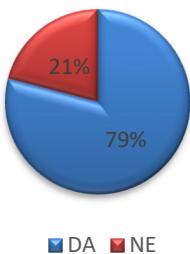
Slika 9 Jela koja anketirani učenici (N = 172) opisuju kao najdraža: u velikom postotku (a) i u malom postotku (b)

Rezultati odgovora na pitanje koliko često učenici konzumiraju "fast food" prikazani su slikom 10. Među ispitanim učenicima nema onih koji "fast food" konzumiraju svakodnevno, ali njih čak 50 % jede brzu hranu više puta tijekom tjedna, 14 % jednom tjedno i njih 28 % jednom mjesечно.

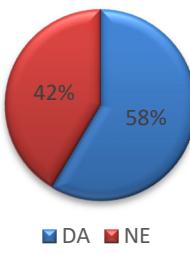


Slika 10 Učestalost konzumacije „fast fooda“ među anketiranim učenicima (N = 172)

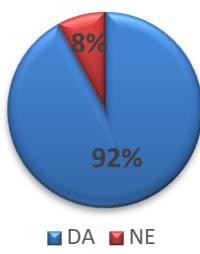
Na pitanje jedu li voće i povrće svaki dan, učenici su se trebali odlučiti za odgovor DA ili NE, a rezultati su prikazani slikom 11 za svakodnevnu konzumaciju voća i slikom 12 za svakodnevnu konzumaciju povrća. Od 172 učenika, 136 učenika (79 %) svakodnevno konzumira voće dok 100 učenika (58 %) svakodnevno konzumira povrće. Postotak učenika koji doručkuju prije odlaska u školu kada im je nastava ujutro je 92 % (slika 13).



Slika 11 Postotak svakodnevne konzumacije voća među anketiranim učenicima (N = 172)



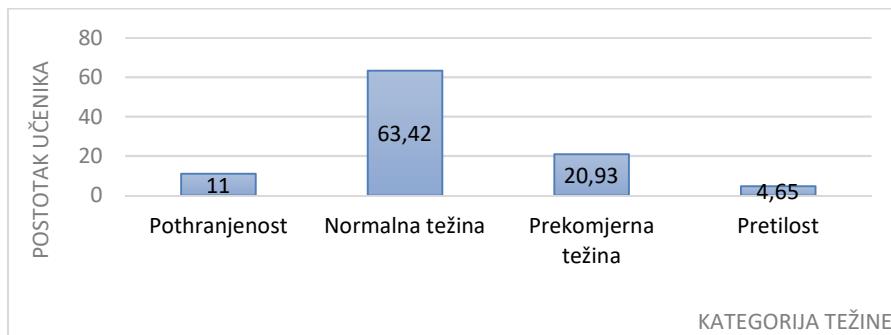
Slika 12 Postotak svakodnevne konzumacije povrća među anketiranim učenicima (N = 172)



Slika 13 Postotak anketiranih učenika (N = 172) koji doručkuju prije polaska u školu kada im je nastava ujutro



Kako bi dobili podatke o postotku uhranjenosti učenika i učenica koji su sudjelovali u istraživanju, indeks tjelesne mase svakoga učenika ili učenice, uvrštavajući njihovu dob i spol, usporedili smo s percentilnim krivuljama (slika 3), te odredili postotke učenika prema težinskim kategorijama prikazanim u tablici 1. 11 % učenika ima težinu manju od poželjne, 63,42 % ima normalnu tjelesnu masu, 20,93 % učenika ima prekomjernu težinu, a 4,65 % učenika je pretilo. Ukupan postotak učenika koji ima težinu veću od preporučene je 25,58 %. Dobiveni rezultati grafički su prikazani na slici 14.



Slika 14 Raspodjela anketiranih učenika (N = 172) prema težinskim kategorijama

Rezultati analize evaluacijskih upitnika nakon provedenih radionica

Nakon provedenih vršnjačkih edukacija i radionica, na kraju sata učenici su popunjavali izlaznu karticu u kojoj su kroz tri pitanja iskazali svoje mišljenje o provedenoj edukaciji i radionici. Na radionicama su ukupno sudjelovala 154 učenika i učenice, a rezultati evaluacije prikazani su u tablici 4.

Tablica 4 Odgovori (evaluacija) učenika (N = 154) nakon provedene vršnjačke edukacije

PROCJENA	IZVRSNO	DOBRO	NE SVIĐA MI SE
Ocijeni današnji sat.	150 odgovora	4 odgovora	0 odgovora
Ocijeni učenice koje su održale današnji sat.	154 odgovora	0 odgovora	0 odgovora
Ocijeni radionicu koju ste proveli u grupnom radu.	148 odgovora	4 odgovora	2 odgovora

Rezultati pokazuju da učenici vole ovakav način rada, da su im se radionice svidjele, kao i način na koji je provedena vršnjačka edukacija.

Digitalna knjižica recepata

Kao plod rada velikog broja učenika i njihovih roditelja nastala je digitalna knjižica recepata koja je dostupna na poveznici: [Što je danas na jelovniku?](#)

Digitalna knjižica sadrži četiri poglavlja: Ah, taj divni sendvič; Što ćemo za namaz?; Ima li nešto slatko? i Mlijeko, jogurt voće. Sakupljen je dovoljan broj recepata kako bi učenici i njihovi roditelji dobili ideju kakav obrok pripremiti za školsku marendu. Knjižica se i dalje nadopunjuje uz kontrolu i recenziju učiteljica iz biologije u našoj školi. Na slici 15 prikazana je naslovница digitalne knjižice recepata koja je nastala tijekom ovoga istraživanja.

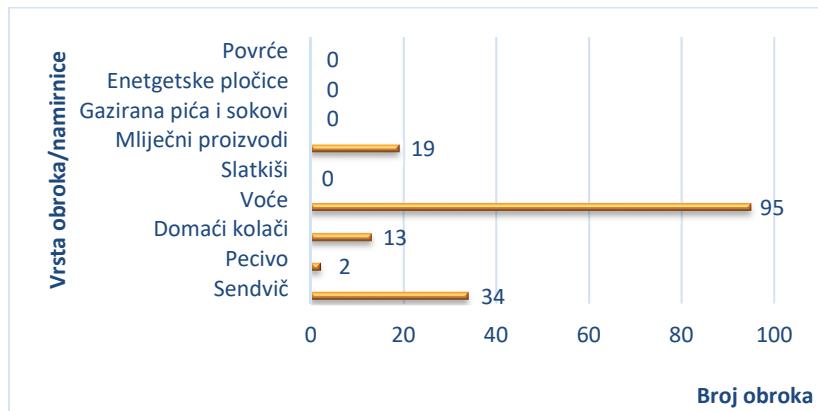


Slika 15 Naslovница digitalne knjižice nastale tijekom projekta "Što je danas na jelovniku?"



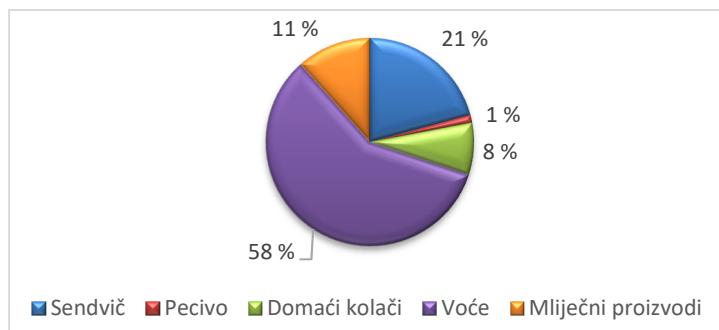
Rezultati analize školskog obroka nakon provedene vršnjačke edukacije

Nakon provedenih svih aktivnosti i objave digitalne knjižice recepata napravljena je ponovna analiza jedne školske marenđe u svim razrednim odjelima u kojima se istraživanje provodilo. Rezultati su prikazani na slici 16. Analiza je napravljena bez prethodne najave, 1. ožujka 2022. Na nastavi su tada bila 163 učenika, svi su od kuće ponijeli marendu i ukupan broj obroka bio je 163, učenici nisu imali obilne marenđe i nisu sadržavale različite skupine jela.



Slika 16 Sastav školske marenđe tijekom analiza obroka provedene nakon edukacije u osam razrednih odjela

Na slici 17 grafički je prikazan udio skupina obroka u postocima tijekom ponovljene analize školske marenđe.



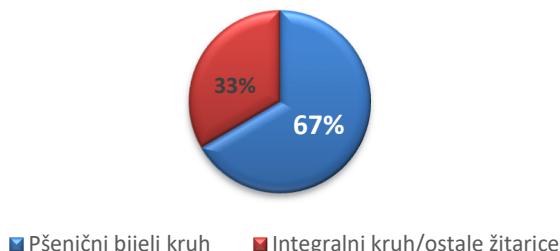
Slika 17 Sastav školske marenđe u postocima nakon provedene vršnjačke edukacije

Na analize školskih obroka, 1. ožujka 2022., tri razredna odjela imala su dogovoreni "voćni dan", dan kada za školsku marenđu za obrok imaju samo voće i stoga je udio voća bio visok, 58,3 %. "Voćni dan" je novost u tim razrednim odjelima, učenici su ga samostalno dogovorili sa svojim učiteljicama i provode ga nakon provedene vršnjačke edukacije. Nedostatak ove analize je taj što se analiza marenđe provodila za vrijeme "voćnoga dana", ali kako je analize marenđe bila nenajavljeni i autoricama projekta je bilo iznenađenje uopće postojanje "voćnoga dana" u većem broju razrednih odjela. Ponosne smo što je nakon vršnjačke edukacije porastao udio voća u školskoj marendi, ali smo svjesne da je dobiveni rezultat pomalo nerealan.

Udio sendviča koji je prije edukacije bio najčešći obrok, u ovoj analizi bio je 20,8 %. Učenici slatkiše nisu konzumirali, kao ni gazirana pića niti sokove.

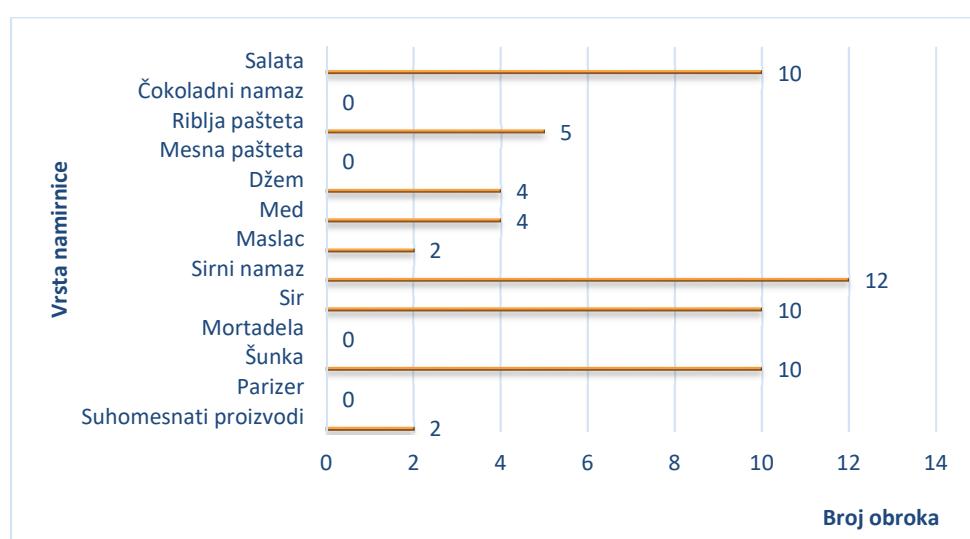


Od 34 sendviča koja su pobrojana u ovoj analizi obroka, 24 peciva napravljena su od bijelog pšeničnog brašna, a 12 peciva načinjeno je od nekih drugih integralnih žitarica (kukuruz, heljda, raž i proteinski kruh). Rezultati su prikazani grafički na slici 18.



Slika 18 Vrsta kruha za sendviče tijekom školske marelne nakon provedene vršnjačke edukacije

Ponovnim popisivanjem svih namirnica koje su činile sendvič dobiveni su sljedeći podaci koji su prikazani slikom 19. Sastav sendviča uvelike se promjenio. U ponovljenom istraživanju primjećuje se u deset sendviča prisutnost salate dok prije edukacije niti jedan sendvič nije sadržavao salatu.



Slika 19 Sastav učeničkih sendviča za vrijeme školske marelne nakon provedene vršnjačke edukacije

Rezultati analize završnog anketnog upitnika

Završnom anketnom upitniku pristupilo je ukupno 136 učenika. Na pitanje je li istraživanje o prehrani tijekom školske marelne utjecao na promjenu školskih obroka, 116 ih je odgovorilo pozitivno, što iznosi 85,29 % anketiranih učenika. Njih 14,71 % nije promijenilo svoje prehrambene navike tijekom školske marelne. Odgovori na koji način su to napravili raznovrsni su i zanimljivi, izdvajamo nekoliko odgovora koji su nas posebno dojmili, a prikazani su slikom 20.

Do sad smo slušali dosta predavanja od odraslih o zdravoj prehrani, međutim nije nam se baš dojnilo odnosno nije baš utjecalo na nas, znamo da se trebamo hraniti zdravo...ali naše vršnjakinja su nam to prikazale na što realniji, zanimljiviji način prilagođen svim uzrastima pa je svaki razred uveo dan za voće i stavno nas je osvijestilo o problemima, bolestima, važnosti unosa pravilne prehrane i provjerili smo dosta ne zdrave hrane kroz razne radionice

Nosim zdravu hranu i to mi jako pomaze zato jer je zdravje

Voće je postalo moja školska marella te je moj sendvič bogatiji povrćem. Jednom tjedno ponesem smoothie, a bocu vode imam svaki dan u torbi. Ujutro u skolu idem pješke sa prijateljicama pa je nas dogovor da svaki dan neka od nas napravi zdravi ukusni doručak kako bi sto bolje funkcionišale i imale energije za dan.

Slika 20 Odgovori učenika na pitanje kako je vršnjačka edukacija utjecala na promjenu njihovih prehrambenih navika tijekom školske marelne



Odgovori na pitanje kako su kao razredni odjel reagirali na edukaciju, učenici četiri razredna odjela uveli su voćni dan barem jednom tjedno, učenici petog i osmog razreda izradili su tjedne jelovnike kojih se pridržava većina učenika. Učenici trećeg razreda, koji su i prije edukacije imali jako dobre prehrambene navike, nastavili su to činiti i dalje. Jedino učenici prvoga razreda nisu bitnije promijenili svoje prehrambene navike tijekom školske marenge.

RASPRAVA

Prepostavka da će postotak djece s prekomjernom težinom i pretilošću biti u skladu s rezultatima na razini Hrvatske nije se pokazala točnom. Postotak učenika u ovom istraživanju koji imaju prekomjernu težinu je 20,93 %, a pretilih je 4,65 %, što ukupno čini 25,58 % učenika s tjelesnom masom većom od preporučene. Taj postotak je visok i znači da svako četvrti dijete ima problem s težinom i da ima potencijal za razvoj određenih bolesti vezanih uz pretlost. Iako su podaci jako visoki, ipak su niži od rezultata istraživanja CroCOSI 2018./2019. koje pokazuju da 35 % djece ima prekomjernu težinu (Musić Milanović i sur., 2021). Razlog mogućeg odstupanja je taj što su u nacionalnom istraživanju sudjelovala djeca od 8,0 do 8,9 godina, dok su ovim istraživanjem bila obuhvaćena djeca od 7,0 do 14,0 godina, a korištene percentilne krivulje za procjenu težine nisu bile jednake.

Rezultati analize školskih obroka pokazuju da je udio namirnica koji sadrže bijelo brašno, šećer, soli ili nezdrave masnoće kod učenika izuzetno visok i iznosi 80,6 %. Taj podatak u skladu je s našom hipotezom jer smo prepostavili da će više od pola učenika za školski obrok birati takve namirnice. Tu prepostavku smo postavili iskustveno, na temelju svakodnevnih opažanja što učenici jedu za vrijeme školske marenge, a nedostaju podaci o takvim istraživanjima kod populacije učenika u ostalim školama u Republici Hrvatskoj. Vjerojatno je razlog tomu što u Republici Hrvatskoj veliki broj škola ima školsku kuhinju ili skrbi o učeničkim marendama te vode brigu o kvaliteti učeničkih obroka. Prema podacima iz 2009./2010. školske godine na razini Republike Hrvatske 84 % škola ima organiziranu prehranu ([HDND](#), 2013). To u našoj školi nije slučaj te smatramo vrlo važnim utjecati na učenike i roditelje da bolje promišljaju o izboru namirnica za školsku marendu. Ovim radom potvrdili smo i hipotezu da manje od 20 % učenika za marendu bira voće i/ili povrće, jer rezultati pokazuju da je udio voća u ukupnom broju školskih obroka 19,4 %, dok u 981 prikupljenom i analiziranom obroku nismo pronašli povrće kod niti jednog učenika. Dobiveni podaci su nas zabrinuli jer je poznata činjenica da su voće i povrće važan izvor minerala i vitamina te bi trebali biti na svakodnevnom jelovniku svakoga djeteta (Bendelja i sur., 2020). Analizom anketnih upitnika o prehrambenim navikama učenika vidljivo je da 79% ispitanika svakodnevno konzumira voće, a 58 % povrće pa smatramo da učenici takve namirnice ne biraju za školsku marendu, ali ih konzumiraju kroz druge obroke u danu. Također se moglo uočiti da učenici pojedinih razrednih odjela više brinu o izboru namirnica za školsku marendu te neki vrlo često konzumiraju voće koje čini i do 50 % školskih obroka, dok je kod učenika jednog razrednog odjela učestalost konzumiranja voća jako mala. Razlog tome mogao bi biti projekt "Živjeti zdravo - zdravlje je moj odabir" iz školskog preventivnog programa koji se provodi u razrednom odjelu u kojem učenici biraju zdrave namirnice jer se u projektu ističe važnost pravilne prehrane i konzumacije voća, ali to je samo prepostavka koju bi trebalo dodatno istražiti. Naime, spomenuti je projekt zbog pojave pandemije odgođen i nije provedena analiza učinka radiona na učenike koji se uključeni u navedeni preventivni program. Nakon provedene vršnjačke edukacije i objave digitalne knjižice s primjerima recepata školskih obroka, kod većine učenika se primjećuje promjena prehrambenih navika tijekom školske marenge. 85,26 % učenika smatra da je vršnjačka edukacija na njih pozitivno utjecala, a i



rezultati analize školske marenđe u svakom razrednom odjelu nakon provedenih edukacija pokazuje da su učenici bitno promijenili sastav školske marenđe. Na samom početku ovoga istraživanja sendvič je bio obrok koji se u 58 % slučajeva konzumirao za vrijeme školskog odmora, dok je taj postotak nakon provedene edukacije bio svega 20,8 %. Učenici su povećali broj mlječnih obroka, a iz obroka su izbacili grickalice, sokove i gazirane napitke. Udio voćnih obroka porastao je sa 19,4 % na 58,3 %, ali ovaj podatak treba uzeti s rezervom te ponoviti analizu školskih obroka jer je analiza sasvim slučajno napravljena u danu kada su tri razredna odjela uvela "voćni dan". "Voćni dan" je novost koju su učenici na nivou razrednog odjela uveli nakon provedenih vršnjačkih edukacija.

Vrlo je važno kod učenika osvijestiti važnost pravilne prehrane, ukazati na opasnosti koje prekomjerna težina donosi te ih potaknuti na promišljanje o izboru namirnica za školske obroke. Najmanje promjene u sastavu školske marenđe uočavamo kod učenika prvoga razreda te smatramo da je ovo istraživanje potrebno predstaviti i roditeljima kako bi im ukazali na važnost i odabir namirnica za školsku marenđu.

ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata provedenog istraživanja doneseni su sljedeći zaključci:

- ✓ postotak učenika s pretilošću i prekomjernom težinom u ovom istraživanju je 25,58 % što je manje od hrvatskog prosjeka koji iznosi 35 %,
- ✓ preko 80 % obroka školske marenđe koje učenici naše škole konzumiraju tijekom školske marenđe sadrže nezdrave namirnice koje uključuju proizvode od bijelog brašna, šećera, soli i nezdravih masnoća,
- ✓ svega 19,4 % ispitanih učenika za obrok u školi bira voće, a niti jedan učenik se ne odlučuje za povrće,
- ✓ nakon provedene vršnjačke edukacije i objave knjižice recepata "Što je danas na jelovniku?" većina učenika je promijenila i poboljšala svoje prehrambene navike tijekom školske marenđe.

LITERATURA

- Armano G. 2019. Pretilost kod djece - Statistike, uzroci, liječenje i dijeta. <https://lupilu.hr/pretilost-kod-djece-statistike-uzroci-lijecenje-i-dijeta>, pristupljeno, 16. veljače 2022.
- Bendelja D., Lukša Ž., Roščak R., Orešković E., Pavić M., Pongrac N. 2020. Zašto mi treba hrana, Čorić Grgić S. (ur.), Biologija 7 - udžbenik biologije u sedmom razredu osnovne škole. Školska knjiga, Zagreb, str. 80-85.
- Brajković A. 2015. Pretilost kod djece. Završni rad, Sveučilište Sjever, Varaždin.
- Gavin M.L., Dowshen S.A., Izenberg, N. 2007. Dijete u formi: praktičan vodič za odgoj zdrave i aktivne djece - od novorođenčeta do tinejdžera. Mozaik knjiga, Zagreb
- Lopac Groš A., Meštrović O. 2018. Pravilna prehrana i zdravlje. Edutorij e-škole. <https://edutorij.e-scole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/d7d92b59-0fd1-421d-83bc-590dfc53da86/biologija-8/m05/j01/index.html> pristupljeno 5. ožujka 2022.
- Macavara D. 2017. Utjecaj prehrambenih navika, tjelesne aktivnosti i socioekonomskih čimbenika na stupanj uhranjenosti učenika četvrtih razreda osnovne škole Osječko-baranjske županije. Završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Medicinski fakultet, Osijek.
- Montignac M. 2005. Dječja pretilost: Montignacovom metodom protiv prekomjerne tjelesne težine djece i mladeži. Naklada Zadro, Zagreb
- Musić Milanović S, Lang Morović M, Križan H. Europska inicijativa praćenja debljine u djece, Hrvatska 2018./2019. (CroCOSI). Hrvatski zavod za javno zdravstvo: Zagreb; 2021
- Teskera M. 2016. Procjena nutritivnog statusa djece primjenom različitih percentilnih krivulja i Bland Altman metode. Diplomski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb.
- HDND.2013. Nacionalne smjernice za prehranu učenika u osnovnim školama. http://www.hdnd.hr/wp-content/uploads/2015/05/Nacionalne_smjernice_za_prehranu_ucenika_u_osnovnim_skolama.pdf, pristupljeno 3.3.2022.



PRILOZI

Prilog 1 Dio obrasca za prikupljanje sastava školske marenđe

Razredni odjel: _____

	DATUM						
Redni broj učenika	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.

Prilog 2 Uvodni anketni upitnik za učenike razredne nastave

Anketni upitnik

UVODNI ANKETNI UPITNIK - KAKVE SU TVOJE PREHRAMBENE NAVIKE?

1. Koji razred pohađaš? _____
2. Spol M Ž
3. Koliko obroka pojedeš u jednom danu? _____
4. Koje ti je najdraže jelo? _____
5. Koliko često jedeš "fast food"?
 - a) svakodnevno
 - b) više puta tjedno
 - c) jednom tjedno
 - d) jednom mjesečno
 - e) gotovo nikada
6. Jedeš li voće svaki dan? DA NE
7. Jedeš li povrće svaki dan? DA NE
8. Doručkuješ li prije škole kada je nastava ujutro? DA NE

Prilog 3 Poveznica na uvodni anketni upitnik za učenike predmetne nastave izrađen u Microsoft Formsu

[Kakve su tvoje prehrambene navike?](#)



Kakve su tvoje prehrambene navike?

Prilog 4 Poveznice za prezentacije s tijekom edukacije i rezultatima analiziranih školskih obroka pojedinih razrednih odjela

- a) [Prezentacija za 1. i 2. razred](#)
- b) [Prezentacija za 3. i 4. razred](#)
- c) [Prezentacija za 5. i 6. razred](#)
- d) [Prezentacija za 7. i 8. razred](#)

Prilog 5 Poveznica na materijale korištene u radionici za učenike prvog razreda

Oboji i razvrstaj - [materijali za radionicu](#)

Prilog 6 Poveznica na materijale korištene u radionici za učenike drugog razreda

Pravilno razvrstaj i Voće na tanjuru - [materijali za radionicu](#)

Prilog 7 Poveznica na materijale korištene u radionici za učenike trećeg i četvrtog razreda

Piramida pravilne prehrane - [materijali za radionicu](#)

Prilog 8 Poveznica na materijale korištene u radionici za učenike petog razreda

Skrivene masnoće i šećeri - [materijali za radionicu](#)

Prilog 9 Poveznica na materijale korištene u radionici za učenike šestog razreda

Koliko je masan tvoj čips? - [materijali za radionicu](#)

Prilog 10 Poveznica na materijale korištene u radionici za učenike sedmog i osmog razreda

Dokazivanje hranjivih tvari u namirnicama - [materijali za radionicu](#)

Prilog 11 Poveznica na završni anketni upitnik izrađen korištenjem Google Formsa

[Što je danas na jelovniku?](#)



Što je danas na jelovniku?

Hvala Vam što ste sudjelovali u projektu "Što je danas na jelovniku?" .



Koliko je COVID-19 smanjio svijet: utjecaj bolesti na osjet mirisa i okusa

Sara Polašek, 8. razred

Osnovna škola Augusta Harambašića, Zagreb

Mentor: Nada Matanić

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati postoji li razlika u doživljavanju mirisa i okusa u osoba koje su preboljele i koje nisu preboljele COVID-19. U istraživanju je korištena subjektivna procjena opsega gubitka mirisa i okusa (anketa) i objektivno ispitivanje prepoznavanja mirisa (test identifikacije i razlikovanja). Dodatno, intenzitet osjeta mirisa i okusa ispitani su na brojčanoj skali na kojoj su ispitnici unijeli svoj rezultat, koji je izražen u milimetrima. U istraživanje su uključene dvije skupine ispitnika, oni koji su preboljeli COVID-19 (barem jednom potvrđeno PCR ili brzim antigenskim testom) i kontrolna skupina (niti jednom potvrđen koronavirus PCR ili brzim antigenskim testom). Mjerena je identifikacija i razlikovanje četiri mirisa (eterično ulje mandarine, ruže, mente, jabuke i cimeta) te intenzitet dva mirisa (mente i lavande) i dva okusa (slatkog i kiselog). Rezultati istraživanja pokazali su veći doživljeni intenzitet mirisa kod osoba koje nisu preboljele COVID-19, i to 37,7 % bolji rezultat za miris lavande, a 20,5 % bolji rezultat za miris mente. Zabilježen je jedan slučaj potpune anosmije, tj. nemogućnosti prepoznavanja sva četiri testirana mirisa, kod osobe koja je preboljela COVID-19 pet mjeseci prije provedbe testiranja. Intenzitet okusa nije se znatnije razlikovao između dvije analizirane skupine. Ispitnici koji su preboljeli COVID-19 imali su prosječno povećanje tjelesne mase od 0,8 kg tijekom pandemije, dok je prosječna vrijednost povećanja mase kontrolne skupine iznosila 0,1 kg. Ovi rezultati ukazuju na smanjenje doživljaja mirisa kod osoba koje su preboljele COVID-19, čime možemo reći da im je COVID-19 stvarno smanjio svijet.

Ključne riječi: korona virus; njuh; okus; tjelesna masa; prehrana

UVOD

Što bi se dogodilo da nam netko oduzme dva od pet naših osjetila? Kako bi nam život izgledao? Bi li naš svijet ostao isti? Zasigurno ne. Osjetila su nam poput prozora u svijet. Pomoću njih prikupljamo važne informacije o zbivanjima u našem okolišu. Pet glavnih osjetila su osjet vida, okusa, mirisa, dodira i sluha.

Osjetni organ kojim primamo okusne podražaje je jezik. Na gornjoj površini jezika nalaze se okusne papile u kojima su smještene osjetne stanice za okus. Čovjek razlikuje 5 glavnih okusa: slatko, slano, gorko, kiselo i umami (Sulyanto, 2021). Organ kojim primamo mirisne podražaje je nos. Osjetne stanice za miris smještene su u gornjem dijelu nosne šupljine. Njušnim živcem podražaji se prenose u obliku živčanih impulsa, koji zatim dolaze do određenih područja u moždanoj kori i tamo nastaje osjet mirisa. Osjet mirisa je puno složeniji od osjeta okusa jer njime možemo razlikovati veliki broj različitih mirisa (Hummel i sur., 1997; Sulyanto, 2021).

Od naših pet osjetila, osjet okusa i mirisa su zajedno zaduženi za nekoliko važnih uloga. Jedna od njih je prepoznavanje sigurne i ukusne hrane (i pića), pomoću kojih ćemo dobiti dovoljno energije i hranjivih tvari. Uz to, našim precima su miris i okus hrane bili jako važni, jer su tako mogli prepoznati i izbjegći otrovnu hranu, koja je u prirodi najčešće gorka, kao i pokvarenu hranu, koja može biti kisela zbog rasta bakterija i fermentacije (Mennella i sur., 2017).

Poznato je da osjeti slabe kako ljudi stare, a osim starenja, do slabljenje osjeta mirisa i okusa mogu dovesti i bolesti, poput prehlade i gripe ili ozljede glave (NIH, 2021). Slabljenje osjeta može imati različite stupnjeve. Postoji pojava koja se u medicini naziva hiposmija, a označava djelomično oslabljeni osjet mirisa, kao i hipogezija, što označava djelomično oslabljeni osjet okusa. Potpuni gubitak osjeta mirisa i okusa se zovu anosmija i ageuzija. Još postoji i disosmija i disgeuzija, izrazi koji se odnose na



iskriviljeno doživljavanje mirisa i okusa, tj. osoba doživljava miris i okus na drugačiji način u odnosu na osobu koja nema taj poremećaj (Fried, 2021).

Uz važnu ulogu u prehrani, osjet mirisa ima i važnu ulogu u zaštiti organizma od štetnih učinaka iz okoliša i time je važan za sigurnost i preživljavanje. Na primjer, vrlo je važno da osoba može osjetiti miris dima u slučaju požara ili zagorene hrane u pećnici, da osjeti miris curenja plina u stanu ili kući, kao i da može osjetiti da se svježe meso pokvarilo i da ga ne bi trebalo jesti.

Koliko su nam u svakodnevnom životu važni osjeti mirisa i okusa, pokazala je i nova zarazna bolest. Radi se o bolesti COVID-19, čiji je uzročnik novi korona virus (SARS-CoV-2). Ono što korona virus razlikuje od drugih sličnih uzročnika bolesti je učinak na osjete mirisa i okusa. Kod nekih je ljudi nagli gubitak osjeta bio prvi simptom bolesti, iako su ljudi s povišenom tjelesnom temperaturom češće doživljavali gubitak osjeta mirisa i okusa (Lechien i sur., 2020). Učestalost gubitka mirisa i okusa često je istraživana tema, no s obzirom da se radi o potpuno novom virusu i novoj bolesti, rezultati pojedinih radova se međusobno razlikuju. U Koreji je samo 15 % bolesnika prijavilo gubitak ili poremećaj u funkciranju tih osjeta (Lee i sur., 2020), a u Francuskoj čak 70 % (Chary i sur., 2020). Najveći postotak gubitka osjeta zabilježen je u istraživanju provedenom u 12 bolnica diljem Europe. Prema tom istraživanju pokazano je kako je čak 86 % bolesnika imalo oslabljeni osjet njuha, a 88 % bolesnika oslabljeni osjet okusa (Lechien i sur., 2020). Međutim, većina provedenih istraživanja nije objektivno mjerila gubitak osjeta, nego su bolesnici bili pitani o njihovom subjektivnom doživljaju, što znači da bi mjerena učestalost mogla biti još veća. Češći gubitak osjeta doživljavali su mladi, žene i osobe s blažim simptomima, a 64 % njih prijavilo je subjektivni oporavak kroz 15 dana (Chary i sur., 2020). Međutim, pitanje koje i dalje muči znanstvenike je koliko je vremena potrebno da se osjeti mirisa i okusa vrate u potpunosti te kolika je učestalost dugotrajnog oštećenja osjeta među osobama koje su prebolje COVID-19. U istraživanje u Njemačkoj, znanstvenici su uključili 43 osobe kojima su mjerili osjet okusa i mirisa četiri mjeseca nakon što su preboljeli COVID-19 (Gudziol i sur., 2021). Korištenjem mirisnih markera i otopinama namijenjenim testiranju četiri temeljna okusa, utvrdili su da 42 % ljudi i dalje ima oslabljen osjet mirisa, a 19 % ljudi je i dalje imalo anosmiju, tj. potpuni gubitak osjeta mirisa, dok je samo je 9 % ljudi imalo smanjen osjet okusa (Gudziol i sur., 2021). Međutim, u to istraživanje nije bila uključena kontrolna skupina zdravih osoba koje nisu imale COVID-19.

Razlog za zabrinutost oko dugotrajnog gubitka osjeta mirisa i okusa jesu moguće posljedice na zdravlje i sigurnost ljudi koji ih imaju. Naime, ljudi s oslabljenim osjetom njuha skloniji su češćim nesrećama u domu i poremećaju raspoloženja koje kod nekih osoba dovodi do depresije te su kod njih češći poremećaji u prehrani, kao što im je smanjena i kvaliteta života (Chary i sur., 2020). Također, ljudi koji ne osjeti dobro mirise i okuse smanjeno uživaju u hrani. U istraživanju provedenom prije pandemije korona virusa pokazano je kako osobe s poremećajem osjeta mirisa imaju nezdraviji način prehrane. To veliko istraživanje provedeno je u SAD-u na više od šest tisuća ispitanika te je pokazano kako ljudi s poremećajem osjeta mirisa manje konzumiraju zdravu hranu, a više energetski bogatu, nezdravu hranu s puno masnoća i šećera (Rawal i sur., 2021). Ovakvo se ponašanje smatra visokim rizikom za povećanje tjelesne mase i razvoja pretilosti. Iste osobe koje su imale problema sa smanjenim osjetom mirisa imale su veći indeks tjelesne mase, veći opseg struka i češće su obolijevale u odnosu na osobe koje nisu imale taj poremećaj (Rawal i sur., 2021).



Temeljem svega navedenog, može se zaključiti da je COVID -19 stvarno smanjio svijet osobama koje su ga preboljele s navedenim simptomima gubitka osjeta okusa i mirisa. Osim što su smanjene prilike za putovanja, učenje i akademski razvoj, istraživanja, društvena okupljanja, mnogim ljudima su smanjeni i temeljni životni užici, poput užitka u hrani. Osim što umanjuje doživljaj svijeta, oslabljeni osjeti mogu dovesti i do poremećaja u prehrani. Pri tome je opisano da smanjenje osjeta mirisa i okusa kod mlađih ljudi češće dovodi do povećanog unosa hrane, a kod starijih do smanjenog unosa hrane (Rawal i sur., 2021). Dovoljan unos hrane je osobito važan za vrijeme oporavka od bolesti (NIH, 2021), zbog čega je ova tema jako važna i treba ju detaljno istražiti.

Cilj ovog učeničkog istraživačkog projekta bio je istražiti postoji li razlika u doživljavanju osjeta okusa i mirisa između osoba koje su preboljele i koje nisu preboljele COVID-19. Dodatni cilj je bio proučiti postoji li razlika u prehrani i promjeni tjelesne mase u ispitanika koji su preboljeli COVID-19 i onih koji nisu.

Provođenje ovog istraživanja uključuje postavljanje sljedećih hipoteza, za koje se očekuje da će se potvrditi rezultatima:

H1: Osobe koje su preboljele COVID-19 imaju slabiji osjet mirisa i okusa u odnosu na osobe koje ga nisu preboljele.

H2: Osobe koje su preboljele COVID-19 imale su veću promjenu tjelesne mase za vrijeme trajanja pandemije u odnosu na kontrolnu skupinu.

METODE

U istraživanje su uključene dvije skupine ispitanika: ispitivana i kontrolna skupina. Ispitivana skupina sastojala se od osoba koje su preboljele COVID-19 (nakon pozitivnog rezultata testa lančane reakcije polimeraze [PCR] ili brzog antigenskog testa [BAT]). Kontrolna skupina sastojala se od osoba koje do sada nisu preboljele bolest, tj. do sada nisu niti jednom testirane pozitivno na korona virus korištenjem PCR testa ili kućnog testa (negativan rezultat na testu bio je glavni kriterij za uključivanje ispitanika u kontrolnu skupinu).

Plan rada podijeljen je u dvije glavne faze; pilot istraživanje i glavno istraživanje. Pilot istraživanje sastojalo se od 4 etape: osmišljavanje anketa za prikupljanje podataka, kreiranje testa za ispitivanje osjeta mirisa, kreiranje testa za ispitivanje osjeta okusa te provedba pilot testiranja na pet ljudi. Pilot istraživanje provedeno je tijekom siječnja 2022. godine.

Pilot istraživanje

U prvoj etapi pripremljena su dva anketna listića; jedan za ispitivanu skupinu, a drugi za kontrolnu skupinu. Anketa za ispitivanu skupinu (prilog 1) sadržavala je pitanja o dobi, spolu, visini i tjelesnoj masi, informacije o cijepljenju i datumu dijagnoze za oboljenje od COVIDa-19. Druga skupina pitanja odnosila se na stupanj gubitka osjeta mirisa i okusa te procjenu doživljaja gubitka tih osjeta, a treća na prehrambene navike i promjene u tjelesnoj masi. Anketa za kontrolnu skupinu (prilog 2) bila je kraća i obuhvaćala je pitanja o dobi, spolu, visini i tjelesnoj masi te informacije o cijepljenju. Drugi dio ankete za kontrolnu skupinu odnosio se na prehrambene navike i promjene tjelesne mase od početka pandemije.



Druga etapa istraživanja bila je kreiranje testa za ispitivanje osjeta mirisa. S obzirom da su sva doživljavanja osjeta subjektivna, a tako i osjet mirisa, potrebno je provesti što objektivnije mjerjenje kako bi se dobili što točniji podatci. Najlakši način za provedbu objektivnog mjerjenja je korištenje mirisnih otopina (Hummel i sur., 1997). U potrazi za primjerenim mirisima, korištena su eterična ulja različitih biljaka prema vlastitom odabiru (česti mirisi u svakodnevnom životu, poput mirisa hrane, napitaka i cvijeća: eterično ulje jabuke i cimeta, limuna, naranče, mandarine, vanilije, limunske trave, metvice, ruže i lavande). U devet epruveta dodano je 20 ml destilirane vode i po jedna kap od svake vrste eteričnog ulja, svaka kap u zasebnu epruvetu. Uslijedilo je testiranje otopina na pet osoba, od kojih su 3 osobe preboljele COVID-19, a dvije nisu. Svrha ovog pilot-istraživanja na malom broju ispitanika bila je utvrditi kako ljudi reagiraju na testiranje i na planirane koncentracije, mogu li ih identificirati, odrediti vrijeme potrebno za provedbu testa te prepoznati moguće probleme procesa testiranja. S obzirom da svrha pilot-testiranja nije bila usporediti dvije analizirane skupine, pet ispitanika bilo je dovoljno za provjeru koji su mirisi pogodni za testiranje. Istovremeno, tijekom provedbe pilot-istraživanja izrađen je plan mjerena i uvježban je protokol i tehnike za provedbu mjerena ispitanika, posebice pristup ispitaniku i usklađena udaljenost na kojoj je postavljena mirisna otopina ispod nosa ispitanika. Sva mjerena i sva prikupljanja podataka prikupljena su isključivo od strane autorice ovog istraživanja, čime je postignuto usklađeno prikupljanje podataka.

U provedbi testa, ispitanicima je rečeno da zatvore oči, jednom duboko udahnu i izdahnu preko maske te da prije idućeg dubokog udaha skinu masku s lica i duboko udahnu. Za vrijeme tog udaha je svakom ispitaniku postavljena temeljito protresena epruveta ispod nosa na udaljenosti od otprilike 2 cm. Ispitanik je zatim morao identificirati miris i reći koliko je miris intenzivan na skali intenziteta (slika 1). Temeljem odgovora dobivenih tijekom provedbe pilot-testiranja, zaključeno je da su planirane koncentracije mirisa i dalje intenzivne čak i osobama koje su preboljele COVID-19, pa je trebalo smanjiti koncentracije eteričnih ulja. Zbog toga je sadržaj svake epruvete s jednom kapi ulja podijeljen u dvije epruvete (nakon mučkanja), a u svaku je zatim dodano još 10 ml destilirane vode i time je dobivena epruveta s 20 ml destilirane vode i otprilike pola kapi eteričnog ulja. Na kraju su kao četiri mirisa za korištenje u glavnom istraživanju odabrana ruža, metvica, mandarina i jabuka s cimetom, jer su ovi mirisi bili najbolje prepoznati u pilot-testiranju. Na ovaj način je osmišljen test za raspoznavanje mirisa, koji je korišten u glavnom istraživanju. Uz epruvete s eteričnim uljima dodana je i „slijepa kontrola“ (čista destilirana voda bez dodanog mirisa). Na taj način se uveo test razlikovanja, kojim se procjenjuje razaznaje li osoba uistinu mirise od obične vode. Nakon toga stvoren je test za mjerjenje intenziteta mirisa u kojem je u dvije odvojene epruvete stavljeno eterično ulje lavande i metvice kao dva mirisa koja su ispitanici pilot testiranja odabrali kao najsnažnije mirise. Nakon nekoliko pokušaja s različitim brojem

Osjeti se najsnažnije moguće

Jako snažno se osjeti

Snažno se osjeti

Osrednje se osjeti

Slabo se osjeti
Jedva se osjeti
Nista ne osjetim

Slika 1 Prikaz LMS skale
(*Labeled Magnitude Scale*),
koja se koristi za objektivnu
procjenu doživljavanja
intenziteta osjeta (Green i
sur., 1996)



kapi eteričnog ulja, kao konačni test intenziteta mirisa korišteno je 10 kapi ulja lavande dodano u 20 ml destilirane vode i 7 kapi eteričnog ulja metvice dodano u 20 ml destilirane vode. Ova su dva mirisa odabrana za test jer su ispitnicima pilot testiranja bila najintenzivnijeg dojma. Svaki je ispitnik doživljeni osjet mirisa lavande, a potom i metvice, olovkom zabilježio na LMS skali (*Labeled Magnitude Scale*), koja se koristi za objektivnu procjenu doživljavanja intenziteta osjeta (slika 1; Green i sur., 1996). Ispitanici su olovkom na LMS skali zabilježili doživljaj intenziteta za svaku od testiranih otopina, a zatim je izmjerena udaljenost njihovih oznaka od početne točke skale. Udaljenost je izražena u milimetrima.

Dva od mogućih pet okusa koja su odabrana za objektivno procjenjivanje osjeta okusa su testiranje na slatko (saharoza otopljena u vodi) i kiselo (vitamin C u prahu otopljen u vodi). Svaka je otopina napravljena u boci obične negazirane vode volumena od jedne litre. Testirane su tri otopine šećera, prva s 20 g šećera, druga s 25 g šećera i treća s 30 g šećera. Te su koncentracije odabrane u pilot testiranju koristeći predložak ISO standarda 3972 jer su bile između praga osjetljivosti i odbojnosti. Temeljem testiranja provedenog na istih pet ispitanika iz pilot istraživanja, odabrana je otopina s 25 g šećera kao najbolja, niti preslabu koncentraciju niti prejaka. Isti se postupak proveo s otopinom vitamina C tako da je prva otopina sadržavala 3 g vitamina C u prahu, druga 6 g i treća 10 g vitamina C u prahu. Korištena je ista LMS skala za mjerjenje intenziteta doživljavanja osjeta okusa za slatko i kiselo.

Glavno istraživanje: ispitanici i postupci

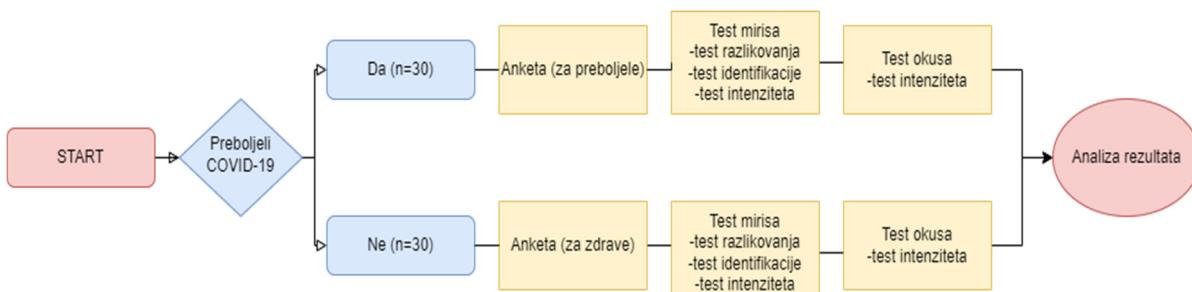
Ukupno je sudjelovalo 60 ispitanika u dvije skupine:

1. Ispitivana skupina: 30 osoba koje su preboljele COVID-19
2. kontrolna skupina: 30 osoba koje nisu preboljele COVID-19.

Svi ispitanici su dobrovoljno sudjelovali i poštivao se osnovni etički principi istraživanja na ljudima: svima je unaprijed objašnjen protokol istraživanja i svi su mogli postavljati pitanja u vezi s istraživanjem, svim je ispitnicima omogućeno da se mogu povući iz istraživanja u bilo kojem trenutku, za sve maloljetne sudionike u istraživanju pribavljenja je suglasnost roditelja za njihovo sudjelovanje. Dodatno, svi su podaci anonimno prikupljeni korištenjem šifri, i nikome nije u bilo kojem obliku nanesena šteta.

U istraživanju su sudjelovali ispitanici u dobi od 10 do 65 godina koji su bili podijeljeni u tri dobne skupine; najmlađa dob (10-18), mlada dob (19-34) i srednja dob (35-65). Niti jedan ispitanik nije imao poznato prethodno oštećenje mirisa i okusa, tj. prije mogućeg zaražavanja COVID-om.

Glavni dio istraživanja proveden je u razdoblju od siječnja do ožujka 2022. godine. Svakom ispitaniku uručena je anketa na koju se nije potpisao nego je dobio šifru radi zaštite privatnosti. Nakon što je ispitanik ispunio anketu, provedeno je prvo mjerjenje za miris, a potom za okus (slika 2). Redoslijed četiri mirisne otopine za svakog ispitanika bio je nasumičan kako bi se izbjeglo prenošenje informacija i nagađanje ispitanika. U svakom od četiri koraka ispitanik je pomirisao otopinu eteričnog ulja i destilirane vode, kako bi se ustanovilo može li razlikovati mirisnu otopinu od destilirane vode (test razlikovanja), a uz to je i imenovao koji miris osjeti, ukoliko ga je mogao prepoznati (test identifikacije). Svi su ispitanici otopinu mirisali u prosjeku od 3 do 5 sekundi, odnosno duljine trajanja jednog udaha. Vremenski razmak između prezentacije pojedinih parova u pravilu je iznosio jednu minutu. Nakon toga je proveden test intenziteta mirisa, a zatim i test intenziteta okusa korištenjem skale za procjenu intenziteta (LMS). Za procjenu intenziteta okusa je svaki ispitanik dobio 10 ml slatke i kisele otopine (odvojeno) u jednokratnim čašama; otopine šećera i vitamina C nisu škodljive pa se smiju progušati.



Slika 2 Shematski prikaz tijeka istraživanja

Anketiranje i sva testiranja ispitanika provedena su strogo poštujući epidemiološke mjere: FFP2 masku koristila autorica istraživanja, bezmirisne rukavice, dok su ispitanici nosili kirurške maske za vrijeme sudjelovanja u istraživanju (osim za vrijeme mirisanja ili uzimanja otopine za test okusa), individualno testiranje provedeno na dovoljnoj udaljenosti od ostalih sudionika u istraživanju kako bi se smanjila opasnost od moguće zaraze korona virusom.

Dobiveni su podaci uneseni u MS Excel. Za brojčane podatke izračunata je srednja vrijednost, a za podatke koji govore o učestalosti izračunati su postotci. Dodatno je izračunata i postotna promjena, kao razlika vrijednosti analiziranih varijabli podijeljena sa zabilježenom nižom vrijednosti. Uspoređene su dob, spol, visina, tjelesna masa i indeks tjelesne mase. U analizi testova za miris i okus uspoređene su učestalosti pojedinih rezultata (test razlikovanja i test identifikacije), a u analizi intenziteta uspoređeni su prosjeci mjerena u obje skupine. Obrasci prehrane vezani uz konzumaciju voća, povrća, slatkisa i grickalica analizirani su usporednom postotkom.

REZULTATI

U ovo istraživanje uključeno je ukupno 60 ispitanika, od kojih je polovica znala da je preboljela koronu (testirani su pozitivno na COVID-19) i smatrani su ispitivanom skupinom ($n = 30$), dok druga polovica do trenutka provođenja testiranja nije preboljela koronu i smatrana je kontrolnom skupinom ($n = 30$). Osnovna usporedba ove dvije skupine ukazala je na postojanje razlike po dobi i manje izražene razlike po udjelu svakog spola (tablica 1).

Tablica 1 Usporedba temeljnih pokazatelja dvije analizirane skupine

Pokazatelj	Preboljeli koronu (n=30)	Nisu preboljeli koronu (n=30)
Dob (godine); srednja vrijednost u godinama	28,6	37,6
Najmlađa dob	8 (26,7 %)	3 (10 %)
Mlada dob	11 (36,7 %)	7 (23,3%)
Srednja dob	11 (36,7 %)	20 (66,7 %)
Spol (udio žena); postotak	60 %	70 %
Visina (cm); srednja vrijednost	172,0	173,6
Tjelesna masa (kg); srednja vrijednost	69,5	75,6
Indeks tjelesne mase (kg/m ²); srednja vrijednost	23,5	25,0

U skupini ljudi koji su preboljeli COVID-19, njih 53 % je izjavilo kako su primijetili subjektivan gubitak osjeta mirisa, dok ih je 50 % prijavilo subjektivan gubitak osjeta okusa. 27 % osoba prijavilo je istovremeni subjektivni gubitak osjeta okusa i osjeta mirisa. U podskupini ljudi koji su izgubili osjet mirisa, 56,3 % ispitanika je prijavilo potpuni ili gotovo potpuni povratak osjeta mirisa u vremenskom roku od mjesec dana, a 25,0 % ispitanika unutar vremenskog okvira od 2 do 3 mjeseca. Ukupno je 18,7



% ispitanika koji su izgubili osjet mirisa zbog korone izjavilo kako se im se osjet još nije vratio u vremenu dužem od 3 mjeseca.

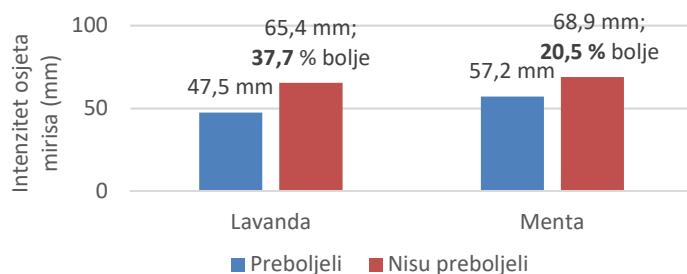
Analiza osjeta mirisa pokazala je nešto bolji rezultat u skupini koja nije preboljela koronu. U toj skupini zabilježena su samo dva slučaja nemogućnosti razlikovanja osjeta mirisa mandarine, dok je u skupini koja je preboljela koronu zabilježen najmanje po jedan slučaj nemogućnosti razlikovanja barem jednog od četiri analizirana mirisa (tablica 2). U skupini koja je preboljela koronu zabilježen je jedan slučaj potpune anosmije, tj. nemogućnosti razlikovanja sva četiri mirisa (u trajanju od pet mjeseci), dok u skupini koja nije preboljela koronu nije bilo takvih slučajeva (tablica 2).

Tablica 2 Usporedba dvije analizirane skupine u testovima razlikovanja i identifikacije mirisa

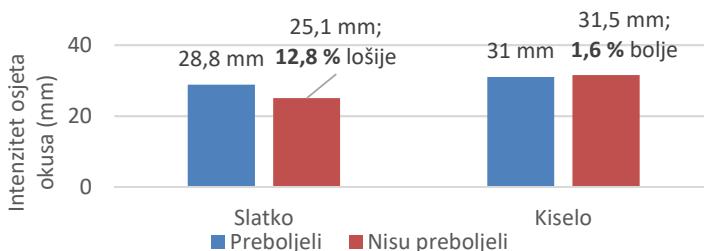
Pokazatelj	Preboljeli koronu (n=30)	Nisu preboljeli koronu (n=30)
Test razlikovanja (nisu razlikovali miris od vode); n (%)		
Mandarina	1 (3,3 %)	2 (6,7 %)
Ruža	1 (3,3 %)	0
Menta	1 (3,3 %)	0
Jabuka i cimet	3 (9,9 %)	0
Potpuna anosmija (nemogućnost prepoznavanja sva četiri korištena mirisa)	1 (3,3 %)	0
Test identifikacije (točno prepoznali miris)		
Mandarina	16 (53,3 %)	17 (56,6 %)
Ruža	4 (13,4 %)	8 (26,6 %)
Menta	22 (73,3 %)	25 (83,3 %)
Jabuka i cimet	2 (6,7 %)	7 (23,3 %)

Test identifikacije mirisa imao je usporedive rezultate za dvije analizirane skupine, osim za identifikaciju ruže (koja je bila dvostruko bolje prepoznata kod osoba koje nisu preboljele koronu) i identifikacije složenog mirisa, jabuke i cimeta, koji je bio 3,5 puta bolje prepoznat kod osoba koje nisu preboljele koronu (tablica 2).

Zabilježene su izraženije razlike u testu intenziteta koji je bio 37,7 % bolji kod osoba koje nisu preboljele koronu za miris lavande te 20,5 % bolji kod osoba koje nisu preboljele koronu za miris mente (slika 3). U testiranju okusa nisu zabilježene izražene razlike prosječnih vrijednosti doživljenih intenziteta osjeta okusa za slatko i kiselo među osobama koje su preboljele i onima koje nisu preboljele COVID-19 (slika 4).



Slika 3 Usporedba testiranja intenziteta osjeta mirisa za lavandu i mentu među osobama koje su preboljele i onima koje nisu preboljele COVID-19



Slika 4 Usporedba testiranja intenziteta osjeta okusa za slatko i kiselo među osobama koje su preboljele i onima koje nisu preboljele COVID-19

Usporedba rezultata prema spolu ukazala je na prosječnu vrijednost intenziteta za osjet mirisa lavande kod muškaraca koji su preboljeli COVID-19 od 38,0 mm, dok je kod žena ta vrijednost bila 53,8 mm. Istovjetni test za miris mente imao je prosječnu vrijednost za muškarce od 40,5 mm, a za žene 68,3 mm. Kod osoba koje nisu preboljele COVID-19 srednja vrijednost za lavandu kod muškaraca je iznosila 57,0 mm, a žena 69,0 mm, dok je intenzitet osjeta za mentu kod muškaraca imao prosječnu vrijednost 53,8 mm, a kod žena 75,4 mm. Usporedba osoba koje su preboljele i onih koje nisu preboljele koronu ukazala je na 50,0 % bolji rezultat za miris lavande kod muškaraca koji nisu preboljeli koronu te 32,8 % bolji rezultat za miris mente. Kod žena je ovaj postotak iznosio 28,3 % veći intenzitet za miris lavande te 10,4 % za miris mente.

Podjela na tri dobne skupine ukazala je na ujednačeni rezultat kod osoba koje su preboljele COVID-19, s prosječnim vrijednostima od 43,0 mm za najmlađu dobnu skupinu muškaraca (do 18 godina), 50,4 mm za mladu (19-34 godina) te 47,2 mm za srednju dob (35 i više) za intenzitet mirisa lavande. Odgovarajuće vrijednosti za miris mente iznosile su 58,8 mm za najmlađu skupinu, 55,8 mm za mladu te 57,8 mm za srednju. U skupini koja nije preboljela COVID-19 prosječna vrijednost intenziteta osjeta mirisa lavande iznosila je 66,7 mm za najmlađu skupinu, 65,1 mm za mladu te 65,3 mm za srednju dob, dok je su vrijednosti za miris mente iznosila 87,3 mm za najmlađu, 73,0 mm za mladu te 64,3 mm za srednju dob. Usporedni prikaz za miris lavande govorio je u prilog samo 2,5 % razlike za najmanju i najveću vrijednost (66,7 mm u najmlađoj dobnoj skupini u usporedbi s 65,1 mm u mlađoj skupini). Za miris mente ova razlika bila je znatno izraženija, s 35,8 % boljim rezultatom u najmlađoj dobnoj skupini u usporedbi sa srednjom.

Ispitanici koji su prijavili i najmanje moguće smanjenje osjeta mirisa u anketi imali su prosječnu vrijednost intenziteta mirisa lavande 46,4 mm, a mirisa mente 60,2 mm; ispitanici koji nisu prijavili smanjenje osjeta mirisa imali su vrlo slične vrijednosti, i to 48,8 mm za miris lavande i 53,2 mm za miris mente. Ispitanici koji su prijavili smanjenje osjeta okusa imali su prosječni intenzitet osjeta za slatko od 27,4 mm, a za kiselo od 33,1 mm. Ispitanici koji nisu prijavili smanjenje osjeta okusa imali su intenzitet okusa za slatko 29,9 mm, a za kiselo 29,2 mm.

Ispitanici koji su preboljeli COVID-19 prijavili su prosječno povećanje tjelesne mase od 0,8 kg, dok su ispitanici koji nisu preboljeli COVID-19 imali samo 0,1 kg prosječnog povećanja tjelesne mase. Muškarci koji su preboljeli COVID-19 u prosjeku su imali povećanje tjelesne mase za 1,1 kg, a žene za 0,6 kg. Muškarci koji nisu preboljeli COVID-19 imali su povećanje tjelesne mase za 0,3 kg, a žene od 0 kg, tj. njihova masa se tijekom pandemije u prosjeku nije promijenila.

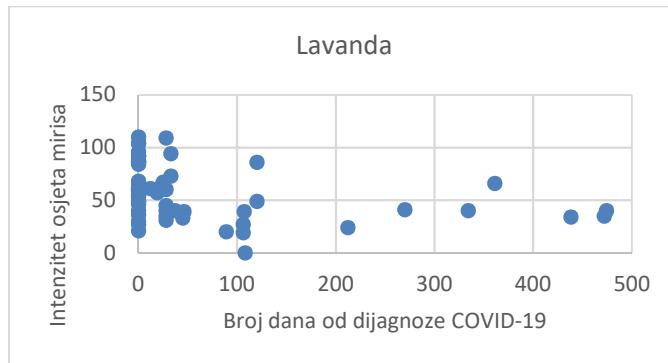


Obrasci prehrane nisu se znatnije razlikovali između analiziranih skupina, iako su ispitanici koji nisu preboljeli COVID-19 prijavili nešto češću konzumaciju analiziranih skupina hrane u usporedbi sa stanjem prije pandemije (tablica 3). Samoprocjena razine stresa bila je niža kod osoba koje su preboljele COVID-19, nego kod osoba koje nisu preboljele tu bolest (tablica 3).

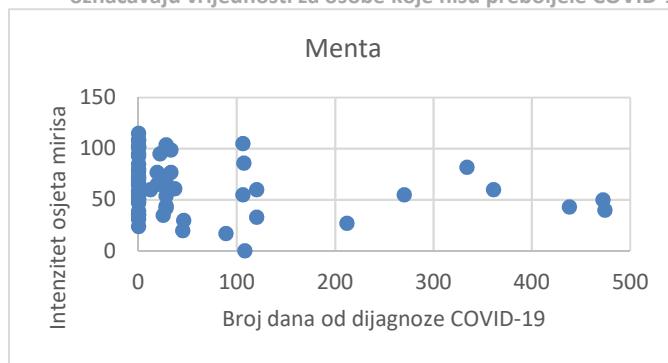
Tablica 3 Usporedba obrazaca prehrane između ispitanika koji su preboljeli COVID-19 i onih koji nisu

Pokazatelj, obrazac promjene	Preboljeli koronu (n=30)	Nisu preboljeli koronu (n=30)
Voće		
Manje konzumira	3 (10,0 %)	5 (16,7 %)
Jednako konzumira	24 (80,0 %)	12 (40,0 %)
Više konzumira sada	3 (10,0 %)	13 (43,3 %)
Povrće		
Manje konzumira	3 (10,0 %)	3 (10,0 %)
Jednako konzumira	24 (80,0 %)	16 (53,3 %)
Više konzumira sada	3 (10,0 %)	11 (36,7 %)
Slatkiši i sokovi		
Manje konzumira	7 (23,3 %)	7 (23,3 %)
Jednako konzumira	18 (60,0 %)	16 (53,3 %)
Više konzumira sada	5 (16,7 %)	7 (23,3 %)
Slane grickalice		
Manje konzumira	7 (23,3 %)	8 (26,7 %)
Jednako konzumira	21 (70,0 %)	14 (46,7 %)
Više konzumira sada	2 (6,7 %)	8 (26,7 %)
Tjelesna aktivnost		
Manja	5 (16,7 %)	7 (23,3 %)
Jednaka	19 (63,3 %)	13 (43,3 %)
Viša	6 (20,0 %)	10 (33,3 %)
Razina stresa		
Manja	2 (6,7 %)	0
Jednaka	19 (63,3 %)	11 (36,7 %)
Viša	9 (30,0 %)	18 (60,0 %)

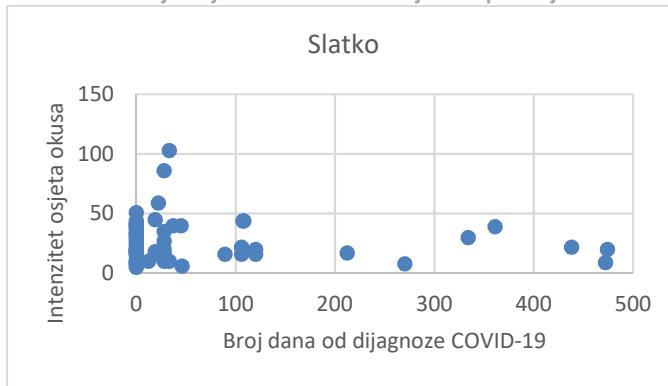
Na slici 3 je prikazan intenzitet doživljenog osjeta mirisa lavande za sve ispitanike, pri čemu je za ispitanike koji su preboljeli COVID-19 uzet u obzir datum dijagnoze, tj. vrijeme koje je proteklo od obolijevanja do provedbe testiranja. Svim ispitanicima kontrolne skupine je u ovom prikazu dodijeljena vrijednost 0, kako bi se mogli izravno usporediti na istoj slici. Vidljivo je kako su osobe koje su preboljele bolest imale nižu razinu doživljenog intenziteta mirisa od osoba koje nisu preboljele (slika 5). Pri tome je vrijednost intenziteta bila niža kod ispitanika koji su COVID-19 preboljeli ranije, dok je kod osoba koje su COVID-19 preboljele nedavno intenzitet bio usporediv s osobama koje COVID-19 nisu preboljele (slika 5). Sličan rezultat, uz nešto slabije izražene razlike između analiziranih skupina dobiven je za miris mente (slika 6), dok je za oba okusa razlika između dviju istraživanih skupina bila neznatna (slika 7 i slika 8).



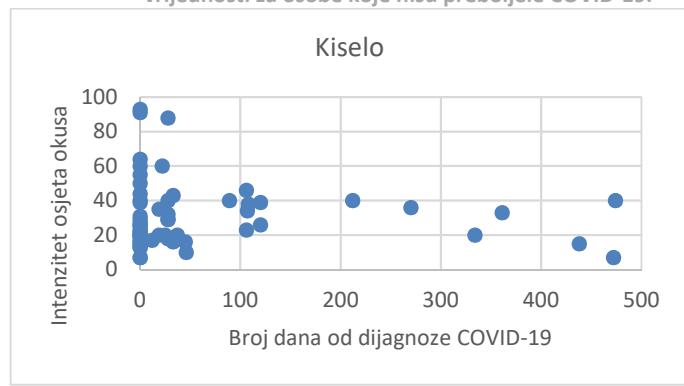
Slika 5 Prikaz broja dana od dijagnoze COVID-19 i intenziteta osjeta mirisa (u mm) za lavandu. Vrijednosti na osi Y označavaju vrijednosti za osobe koje nisu preboljele COVID-19.



Slika 6 Prikaz broja dana od dijagnoze COVID-19 i intenziteta osjeta mirisa (u mm) za mentu. Vrijednosti na osi Y označavaju vrijednosti za osobe koje nisu preboljele COVID-19.



Slika 7 Prikaz broja dana od dijagnoze COVID-19 i intenziteta osjeta okusa za slatko. Vrijednosti na osi Y označavaju vrijednosti za osobe koje nisu preboljele COVID-19.



Slika 8 Prikaz broja dana od dijagnoze COVID-19 i intenziteta osjeta okusa za kiselo. Vrijednosti na osi Y označavaju vrijednosti za osobe koje nisu preboljele COVID-19.



RASPRAVA

Rezultati ovog istraživačkog rada pokazuju da osobe koje su preboljele COVID-19 imaju nižu razinu doživljenog intenziteta mirisa, čime je potvrđen prvi dio prve hipoteze. Istovremeno nije zabilježena izražena razlika za doživljeni intenzitet okusa, što znači da je drugi dio prve hipoteze opovrgnut. Stoga ovo istraživanje govori u prilog izraženijem smanjenju doživljaja osjeta mirisa uz istovremeno održan doživljaj osjet okusa nakon prebolijevanja COVID-19.

Kod testova identifikacije i razlikovanja pronađena je manja razlika između analiziranih skupina, što je bilo očekivano s obzirom da je većina ispitanika prijavila subjektivni oporavak osjeta mirisa unutar vremenskog perioda od tri mjeseca. Ovaj se podatak slaže s istraživanjem provedenim u Grčkoj u kojem je 88 % ispitanika prijavilo potpuni oporavak osjeta mirisa unutar dva mjeseca pri čemu je 38 % ispitanika imalo gubitak osjeta mirisa, a 41 % okusa (Printza i sur., 2021). Ovi rezultati nisu u skladu s rezultatima ovog istraživanja u kojem je veći broj osoba doživjelo gubitak osjeta mirisa od okusa. Drugo istraživanje iz Brazila u potpunosti se slaže s rezultatima ovog istraživanja, jer je u oba istraživanja prikazano kako je 3 % više ljudi prijavilo gubitak osjeta mirisa u odnosu na gubitak osjeta okusa (Gusmão i sur., 2021).

U skupini koja je preboljela COVID-19 zabilježen je i jedini slučaj anosmije, koji je trajao pet mjeseci. Takav rezultat smanjuje kvalitetu života i trebalo bi ga smatrati opsežnim oštećenjem koje je uzrokovano zaražavanjem korona virusom. U takvim slučajevima uistinu je moguće reći da je ovaj virus nekome smanjio doživljaj svijeta.

Jedan od vrlo zanimljivih rezultata ovog istraživanja bio je da subjektivna procjena opsega smanjenja mirisa ili okusa nije bila povezana s objektivno izmjerenim smanjenjem doživljenog intenziteta mirisa, jer su ispitivane skupine imale usporedive vrijednosti na testovima intenziteta.

Druga hipoteza ovog istraživanja bila je usmjerena na vezu između obolijevanja od COVIDa-19 i promjene tjelesne mase. Zabilježen je veći porast srednje vrijednosti tjelesne mase tijekom pandemije kod ispitanika koji su preboljeli COVID-19, koje je prosječno bilo čak osam puta veće od ispitanika u kontrolnoj skupini (izraženje kod muškaraca, i to u obje analizirane skupine). Ovaj rezultat se djelomično može objasniti zabilježenom češćom konzumacijom voća i povrća u kontrolnoj skupini, kao i višom razinom tjelesne aktivnosti u toj skupini. Međutim, u ovom istraživanju nisu prikupljeni detalji o prehrambenim navikama ispitanika, kao niti o njihovom kalorijskom unosu, pa nije moguće dati jednoznačni zaključak o mehanizmima koji su mogli dovesti do te razlike. Osim toga, na porast tjelesne mase mogao je utjecati i gubitak osjeta mirisa, koji je mogao imati nepovoljan učinak na uživanje u hrani i osjetu sitosti u osoba koje su preboljele COVID-19. Na primjer, osoba koja ima smanjen osjet mirisa nema punu percepciju hrane i moguće je da želi jesti više kako bi nadoknadila izgubljeni dojam ugode koju hrana može pružiti.

Analiza vremenske odrednice u mjerenu intenziteta mirisa i okusa pokazala je moguće razlike u ishodima ovisno o soju kojim je osoba bila zaražena. Rezultati ukazuju na najizraženije smanjenje osjeta mirisa kod osoba koje su bile zaražene delta varijantom, s obzirom da su bile zaražene prije više od dva mjeseca od trenutka prikupljanja podataka. S druge strane, intenzitet percipiranog osjeta mirisa kod osoba koje su nedavno oboljele je bio sličniji obrascu koji su pokazale osobe koje nisu preboljele COVID-19.



U skladu s prethodnim istraživanjem (Heian i sur., 2022), pronađeni su bolji rezultati na testu intenziteta mirisa kod žena u odnosu na muškarce. Za razliku od spola, nisu zabilježene znatnije razlike u doživljavanju intenziteta mirisa prilikom podjele po dobi, i to u obje analizirane skupine.

U istraživanju također postoje i određeni problemi. Zbog masovne proširenosti virusa, nije moguće odrediti je li osoba koja je svrstana u kontrolnu skupinu uistinu bila nezaražena. Također, mogući problem u istraživanju bio je da ispitanicima nije provedeno testiranje mirisa i okusa prije zaražavanja, što znači da ovim istraživanjem nije bilo moguće izravno testirati utjecaj COVIDa-19 na promjene osjeta okusa i mirisa pojedine osobe, nego samo usporediti rezultate dvije analizirane skupine. Dodatno, nije poznato jesu li osobe prije zaražavanja mogle dobro osjetiti okuse i mirise. Osim navedenih problema, ovo istraživanje imalo je i nekoliko važnih pozitivnih strana. U istraživanju su korištena i subjektivna procjena gubitka osjeta okusa i mirisa i objektivno mjerjenje opsega tih gubitaka, što je omogućilo njihovu usporedbu. U istraživanje je uključena i kontrolna skupina, što predstavlja znatnu prednost nad nizom sličnih istraživanja, koja su uključila samo skupinu osoba koje su preboljele COVID-19 bez kontrolnih skupina. Konačno, ovo istraživanje obuhvatilo je istovremenu analizu mirisa i okusa, što je jedna od stavki koja ovo istraživanje čini informativnijim od drugih istraživanja koja su provela ispitivanje samo gubitka mirisa ili samo gubitka okusa.

ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja doneseni su sljedeći zaključci:

- ⤒ osobe koje su preboljele COVID-19 imaju slabiji intenzitet osjeta mirisa u odnosu na osobe koje nisu preboljele ovu bolest
- ⤒ žene su doživjele mirisne otopine snažnjim intenzitetom u odnosu na muškarce u obje istraživane skupine, dok za dob nije zabilježen ovako jasan učinak na osjet mirisa
- ⤒ osobe koje su preboljele COVID-19 imale su veći prosječni porast tjelesne mase u odnosu na kontrolnu skupinu
- ⤒ za razliku od mirisa, nisu pronađene izražene razlike u osjetu okusa povezane s preboljenjem COVIDa-19.

LITERATURA

- Chary E., Carsuzaa F., Trijolet J. P., Capitaine A. L., Roncato-Saberan M., Fouet K., Cazenave-Roblot F., Catroux M., Allix-Beguec C., Dufour X. 2020. Prevalence and recovery from olfactory and gustatory dysfunctions in COVID-19 infection: A prospective multicenter study. *Am J Rhinol Allergy*. 34(5):686-693.
- Fried M. P. 2021. Overview of Smell and Taste Disorders. <https://www.merckmanuals.com/en-pr/home/ear,-nose,-and-throat-disorders/symptoms-of-nose-and-throat-disorders/overview-of-smell-and-taste-disorders>, pristupljeno 19.01.2022.
- Green B. G., Dalton P., Cowart B., Shaffer G., Rankin J., Higgins J. 1996. Evaluating the 'Labeled Magnitude Scale' for measuring sensations of taste and smell. *Chem. Sense*. 21:323–334.
- Gudziol H., Kirschstein T., Pletz M. W., Weis S., Guntinas-Lichius O., Bitter T., CoNAN study group. 2021. High prevalence of long-term olfactory dysfunction confirmed by olfactory testing after a community COVID-19 outbreak. *U tisku*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8697538/>, pristupljeno 19.01.2022.
- Gusmão P. A. O. A., Roveda J. R. C., Leite A. S. M., Leite A. S., Marinho C. C. 2021. Changes in olfaction and taste in patients hospitalized for COVID-19 and their relationship to patient evolution during hospitalization. *Braz J Otorhinolaryngol*. 24:S1808-8694(21)00193-2.
- Heian I. T., Helvik A. S., Hummel T., Øie M. R., Nordgård S., Bratt M., Thorstensen W.M. 2022. Measured and self-reported olfactory function in voluntary Norwegian adults. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. Feb 23. doi: 10.1007/s00405-022-07298-7. (u tisku)
- Hummel T., Sekinger B., Wolf S. R., Pauli E., Kobal G. 1997. 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses*. 22(1):39-52.



ISO International standard. ISO 3972. Sensory analysis - Methodology - Method of investigating sensitivity of taste.

<https://www.iso.org/standard/50110.html>, pristupljeno 16.04.2022.

Lechien J. R., Chiesa-Estomba C. M., De Sati D. R., Horoi M., Le Bon S. D., Rodriguez A., Dequanter D., Blecic S., El Afia F., Distinguin L., Chekkouri-Idrissi Y., Hans S., Delgado I. L., Calvo-Henriquez C., Lavigne P., Falanga C., Barillari M. R., Cammaroto G., Khalife M., Leich P., Souchay C., Rossi C., Journe F., Hsieh J., Edjlali M., Carlier R., Ris L., Lovato A., De Filippis C., Coppee F., Fakhry N., Ayad T., Saussez S. 2020. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. European Archives of Oto-Rhino-Laryngology. 277: 2251–2261.

Lee Y., Min P., Lee S., Kim S.W. 2020. Prevalence and duration of acute loss of smell or taste in COVID-19 patients. J Korean Med Sci. 35(18):e174.

Mennella J. A., Bobowski N., Liem D. 2017. Taste and Smell. Swaiman's Pediatric Neurology (Sixth Edition); str 58-64.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323371018000096>, pristupljeno 19.01.2022.

NIH (National Institute of Health). 2021. How smell and taste change as you age. <https://www.nia.nih.gov/health/smell-and-taste#sense>, pristupljeno 19.01.2022.

Printza A., Katotomichelakis M., Valsamidis K., Metallidis S., Panagopoulos P., Panopoulou M., Petrakis V., Constantinidis J. 2021. Smell and Taste Loss Recovery Time in COVID-19 Patients and Disease Severity. Journal of clinical medicine. 10(5):966.

Rawal S., Duffy V. B., Berube L., Hayes J. E., Kant A. K., Li C. M., Graubard B.I., Hoffman H.J. 2021. Self-reported olfactory dysfunction and diet quality: findings from the 2011-2014 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). Nutrients. 13(12):4561

Sulyanto R. 2021. Biology of the mouth. <https://www.merckmanuals.com/en-pr/home/mouth-and-dental-disorders/biology-of-the-mouth-and-teeth/biology-of-the-mouth>, pristupljeno 10. 01. 2022.

PRILOZI

PRILOG 1: Anketa - ispitivana skupina

Šifra:

1. Dob: _____ Spol: M Ž
2. Visina (cm): _____ Tjelesna masa (kg): _____ Kada ste se zadnji put vagali? _____
3. Jeste li cijepljeni protiv korona virusa? a) NE b) DA, s _____ doze
4. Kada ste preboljeli COVID-19 (datum dijagnoze)? _____
5. Kakvi su bili Vaši simptomi?
 - a) bez simptoma (slučajno mi je dijagnosticirana bolest)
 - b) blagi (kao blaži oblik prehlade, npr. curenje nosa, lagana glavobolja, bez temperature)
 - c) umjereni (npr. glavobolja, bolovi u tijelu, temperatura do 38°C)
 - d) teži (jaka glavobolja, kašalj, jaki bolovi, temperatura iznad 38°C)
6. Prema Vašoj procjeni, koliko je bio izražen Vaš gubitak mirisa? (0=uopće nisam izgubio/la osjet njuha, 10=potpuno sam izgubio/la osjet njuha)
0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 – 9 – 10
7. Ako ste imali gubitak mirisa, kako ste to doživjeli (možete zaokružiti više odgovora):
a) ništa nisam osjetio/la; b) mirisi su bili isti, ali slabiji; c) mirisi su mi bili drugačiji; d) osjetio/la sam nepostojeće mirise
8. Ako ste imali gubitak mirisa, nakon koliko vremena se to popravilo:
a) 1 tjedan ili manje; b) kroz 1 mjesec; c) za 2 mjeseca; d) za 3 ili više mjeseci; e) još se nije popravilo
9. Prema Vašoj procjeni, koliko je gubitak mirisa utjecao na Vaš užitak u hrani?
a) nimalo; b) malo se smanjio; c) osrednje; d) puno se smanjio; e) potpuno sam izgubio/la užitak u hrani
10. Prema Vašoj procjeni, koliko je bio izražen Vaš gubitak okusa? (0=uopće nisam izgubio/la osjet okusa, 10=potpuno sam izgubio/la osjet okusa)
0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 – 9 – 10
11. Ako ste imali gubitak okusa, nakon koliko vremena se to popravilo:
a) 1 tjedan ili manje; b) kroz 1 mjesec; c) za 2 mjeseca; d) za 3 ili više mjeseci; e) još se nije popravilo
12. Prema Vašoj procjeni, koliko je gubitak osjeta okusa utjecao na Vaš užitak u hrani?
a) nimalo; b) malo se smanjio; c) osrednje; d) puno se smanjio; e) potpuno sam izgubio/la užitak u hrani
13. Prema Vašoj procjeni, koliko je gubitak mirisa i/ili okusa utjecao na količinu hrane koju konzumirate?
a) jedem puno manje; b) jedem malo manje; c) ista je; d) jedem malo više; e) jedem puno više
14. Prema Vašoj procjeni, koliko je gubitak mirisa i/ili okusa utjecao na Vaš apetit?
a) apetit mi se jako smanjio; b) malo se smanjio; c) isti je; d) malo se povećao; e) jako se povećao
15. Procijenite jesu li se promjenile Vaše prehrambene i druge navike, tj. usporedite Vaše navike SADA u odnosu na Vaše navike prije zaraze korona virusom:

	Puno se smanjila	Malo se smanjila	Jednaka	Malo se povećala	Puno se povećala
Konzumacija voća	1	2	3	4	5
Konzumacija povrća	1	2	3	4	5
Konzumacija slatkisa i sokova	1	2	3	4	5
Konzumacija slanih grickalica	1	2	3	4	5



Razina tjelesne aktivnosti	1	2	3	4	5
Razina stresa	1	2	3	4	5

16. Jeste li zapazili promjenu Vaše tjelesne mase od početka pandemije?

a) NE b) DA, tjelesna masa mi se povećala za _____ kg c) DA, tjelesna masa mi se smanjila za _____ kg.

PRILOG 2: Anketa - kontrolna skupina

Šifra:

1. Dob: _____ Spol: M Ž
2. Visina (cm): _____ Tjelesna masa (kg): _____ Kada ste se zadnji put vagali? _____
3. Jeste li cijepljeni protiv korona virusa? a) NE b) DA, s _____ doze
4. Prema Vašoj procjeni, koliko Vam je osjet mirisa važan za užitak u hrani?
a) nimalo b) malo c) osrednje d) dosta e) izuzetno važan
5. Prema Vašoj procjeni, koliko Vam je osjet okusa važan za užitak u hrani?
a) nimalo b) malo c) osrednje d) dosta e) izuzetno važan
6. Prema Vašoj procjeni, koliko su miris i okus važni za Vaš apetit?
a) nimalo b) malo c) osrednje d) dosta e) izuzetno su važni
7. Procijenite jesu li se promijenile Vaše prehrambene i druge navike, tj. usporedite Vaše navike SADA u odnosu na Vaše navike prije epidemije korona virusa:

	Puno se smanjila	Malo se smanjila	Jednaka	Malo se povećala	Puno se povećala
Konsumacija voća	1	2	3	4	5
Konsumacija povrća	1	2	3	4	5
Konsumacija slatkiša i sokova	1	2	3	4	5
Konsumacija slanih grickalica	1	2	3	4	5
Razina tjelesne aktivnosti	1	2	3	4	5
Razina stresa	1	2	3	4	5

8. Jeste li zapazili promjenu Vaše tjelesne mase od početka pandemije?

a) NE b) DA, tjelesna masa mi se povećala za _____ kg
c) DA, masa mi se smanjila za _____ kg



Utjecaj različitog uzgoja dagnji (*Mytilus galloprovincialis* LMK.) na njihovu veličinu

Karla Lea Čerkuć, 2. razred

XV. gimnazija, Zagreb

Mentor: *Mihaela Marceljak Ilić*

SAŽETAK

Dagnja je jestivi morski školjkaš, tamnomodre ljuštura, sprijeda šiljaste a straga proširene i zaobljene, duge najčešće 5 do 8 cm, iako može doseći i do 15 cm duljine. Hrani se planktonom i organskom tvari tako da filtrira morsku vodu. Prosječna dagnja filtrira i do 6 litara vode u satu. S obzirom na to, razvijena je posebna metoda uzgoja dagnji, riba i algi, takozvana integrirana multitrofička akvakultura – IMTA. Dagnje uzgajane IMTA-načinom dobivaju funkciju biopročišćivača mora te se smatra da imaju veći unos nutrijenata od, primjerice, dagnji uzgojenih u monokulturi. Dagnje na uzgajalištu ne hrane se dodatno, a dagnje na uzgajalištu bijele ribe hrane se organskom tvari ribe i viškom nepojedene hrane. Iz tog razloga smatra se da će dagnje biti veće ako su uzgojene uz uzgajališta bijele ribe u odnosu na one uzgojene u uzgajalištima dagnji ili u „slobodnom moru“. Cilj je istraživanja dokazati da su dagnje s uzgajališta bijele ribe, zbog povećanog unosa nutrijenata, veće od onih s uzgajališta dagnji. Mjereni su parametri visina, debljina, širina, masa, opseg i volumen dagnji s uzgajališta bijele ribe i uzgajališta dagnji. Dagnje iz slobodnog mora (prostori na kojima rastu bez čovjekova utjecaja) uzete su kao kontrola. Nakon uzorkovanja, po 50 dagnji je po veličini podijeljeno u tri skupine: velike, srednje i male. Ukupno je uzorkovano 1350 komada dagnji s devet lokacija. Analiza rezultata ANOVA testom pokazala je da se dagnje s uzgajališta bijele ribe po veličini statistički značajno razlikuju od dagnji s uzgajališta dagnji. Parametri koji se nisu značajno razlikovali su visina i opseg kod dagnji s uzgajališta bijele ribe i uzgajališta dagnji. S obzirom na istraživanja faktora trošak-dobit i indeksa održivosti okoliša, zaključeno je da je IMTA najprihvatljiviji način uzgoja morskih organizama kao oblika održivog gospodarenja hranom i resursima.

Ključne riječi: biopročišćivači, uzgajališta dagnji , uzgajališta bijele ribe, veličina

UVOD

Dagnja je jestivi morski školjkaš, tamnomodre ljuštura, sprijeda šiljaste a straga proširene i zaobljene, duge najčešće 5 do 8 cm, iako može doseći i do 15 cm duljine (Bonham, 2017). Dagnja se sama u gustim grozdovima dobro prihvata za pergelare. U prvom razdoblju uzgoja mlađ se prikuplja pomoću debljih plastičnih konopaca, tzv. kolektora. Oni se postavljaju na površinu mora, gdje se ličinke dagnji nalaze sve dok ne otežaju. Proces skupljanja mlađi traje oko 6 mjeseci. Nakon toga, dagnje se prvom preradom skidaju s kolektora i pune u mrežaste pletenice, takozvane pergelare duge 2,5 do 3,0 m, promjera oko 2 do 3 cm. Druga dorada dagnji počinje oko 6 mjeseci nakon prve dorade. Dagnje se razvrstavaju po veličini i stavljaju u mrežasta crijeva iste dužine s mrežicama veličine otvora 4 do 5 cm. Ovako pripremljene nedozrele dagnje vješaju se na plutajuće parkove gdje ostaju sljedećih 6 mjeseci kako bi narasle još 2,5 puta (opcina-starigrad.hr, 14.8.2021.).

Dagnja se hrani planktonom i organskom tvari filtrirajući morsku vodu. Prosječna dagnja filtrira i do 6 litara vode u satu (Šarlija, 2021). S obzirom na to razvijena je posebna metoda uzgoja dagnji, riba i algi, takozvana integrirana multitrofička akvakultura – IMTA. IMTA pretpostavlja uzgoj organizama na različitim trofičkim razinama u istom uzgojnem području (Šverko, 2016). Dagnje se hrane ribljim otpadom, a alge otpadom dagnji, stoga se kavezi ribe postave prvi, zatim se u smjeru strujanja mora postavlja pergolar na kojem rastu dagnje te se onda alge stavljaju na kraj. Time se smanjuje količina otpada u moru, a povećava se unos nutrijenata kod svih triju vrsta (Šverko, 2016). Cilj je istraživanja dokazati da su dagnje koje rastu uz uzgajališta bijele ribe veće od onih koje rastu u uzgajalištima dagnji. Pretpostavka je da će dagnje s uzgajališta bijele ribe biti veće jer ih se u uzgajalištima dagnji ne hrani dodatno, već ih se samo po potrebi vadi iz mora kako bi se vidjelo jesu li dosegle veličinu optimalnu za prodaju, dok u uzgajalištima bijele ribe imaju veći unos nutrijenata (Šverko, 2016). Potvrda hipoteze da



su dagnje uistinu veće kod uzgajališta bijele ribe mogla bi pomoći uzgajivačima dagnji da pomoću boljem odabira lokacije dobiju kvalitetniji proizvod. Također bi se možda potaknuo uzgoj dagnji IMTA-načinom, gdje bi dagnje do bile dvostruku ulogu: ulogu bioprocivica pri akvakulturnom uzgoju ribe i u komercijalnom uzgoju hrane za ljudi. Dagnje kao bioprocivice koristi i Bruno Šverko (2016) u svome istraživanju, gdje navodi kako je integrirani multitrofički uzgoj organizama jedna od tehnika za smanjivanje negativnoga utjecaja intenzivne proizvodnje ribe i rakova na okoliš koja ujedno povećava produktivnost. Naime, intenzivni uzgoj riba i rakova podrazumijeva unos dodatnih izvora hrane i nutrijenata u okoliš zbog čega dolazi do negativnog biokemijskog djelovanja na vodenim stupcima, sedimentima i pridnene (bentoske) zajednice. Integrirani uzgoj organizama kombinacija je uzgoja ribe i/ili rakova s uzgojem školjkaša koji se hrane filtracijom suspendiranih čestica iz morske vode ili akvatičnog bilja koje se hrani ekstrakcijom anorganskih čestica iz vode. Tako se školjkaši, morske alge i puževi upotrebljavaju kao neselektivni filtratori – „čistači“.

METODE

Područje istraživanja

Uz konzultacije s mentorom odabrane su lokacije za uzorkovanje dagnji. Na lokacijama uzgajališta bijele ribe uzorkovanje je nadzirala radnica uzgajališta, budući da je pristup neovlaštenim osobama zabranjen. Dagnje su prikupljane s triju različitih skupina lokacija: A) uzgajališta dagnji (slika 1), B) uzgajališta bijele ribe (slike 2 i 3) i C) "slobodnog mora" odnosno mjesta na kojima dagnje rastu bez izravnog čovjekova utjecaja (slika 4). Lokacije "slobodnog mora" služile su kao kontrola u istraživanju.

Sa svake skupine lokacija prikupljena su po tri uzorka, tj. sveukupno je s 9 lokacija tijekom srpnja 2021. godine prikupljeno ukupno 1350 jedinki dagnji (150 jedinki po pojedinoj lokaciji).

Uzgajalište dagnji

1. Uzgajalište 1 ima perkolare na udaljenosti između 6 i 30 m od obale te 4 do 12 m dubine. Nalazi se na koordinatama $44^{\circ} 15' 51.5304''$ N, $15^{\circ} 31' 47.4996''$ E.
2. Uzgajalište 2 ima perkolare na udaljenosti između 300 i 500 m od obale, 20 do 30 m dubine te se nalazi na koordinatama $44^{\circ} 16' 2.82''$ N, $15^{\circ} 31' 35.6376''$ E.
3. Uzgajalište 3 ima perkolare na udaljenosti između 50 i 150 m od obale, na dubini od 10 do 22 m, te se nalazi na koordinatama $44^{\circ} 16' 5.574''$ N, $15^{\circ} 31' 20.226''$ E.



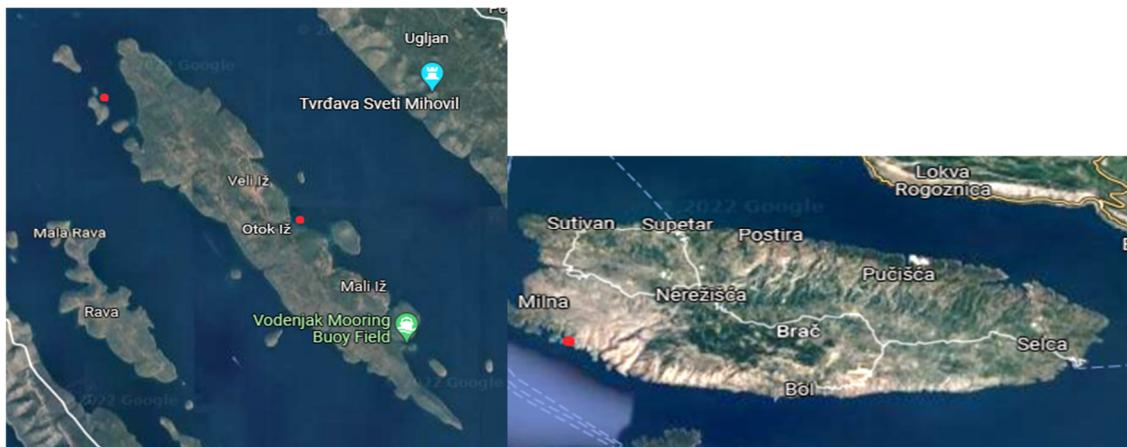
Slika 1 Geografski položaj uzgajališta dagnji (Izvor: Google Maps, 2022)

Uzgajalište bijele ribe

1. Uzgajalište ribe 1 nalazi se 50 m udaljeno od obale, lokacija je na $44^{\circ} 2' 38.0256''$ N, $15^{\circ} 7' 10.8156''$ E.



2. Uzgajalište ribe 2 nalazi se 70 m udaljeno od obale, lokacija je na $44^{\circ} 4' 14.3976''$ N, $15^{\circ} 3' 56.7576''$ E.
3. Uzgajalište ribe 3 nalazi se 300 m udaljenosti od obale, lokacija je na $43^{\circ} 18' 6.2964''$ N, $16^{\circ} 27' 59.0364''$ E.



Slika 2 i 3 Geografski položaj uzgajališta bijele ribe (Izvor: Google Maps, 2022)

“Slobodno more”

1. Koordinate lokacija slobodnog mora u nezaštićenom su području, na lokacijama:
2. $44^{\circ} 14' 10.4424''$ N, $15^{\circ} 31' 21.9504''$ E.
3. $44^{\circ} 12' 17.7768''$ N, $15^{\circ} 34' 34.2156''$ E.
4. $44^{\circ} 12' 29.2932''$ N, $15^{\circ} 34' 5.1528''$ E.



Slika 4 Geografski položaj lokacija „slobodnog mora“ (Izvor: Google Maps, 2022)

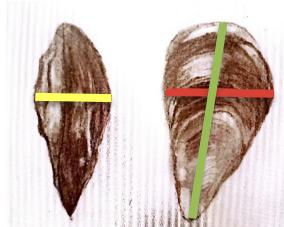
Uzorkovanje i mjerenje dagnji

Dagnje s uzgajališta dagnji vađene su iz pergolara, mjerene te potom vraćene u more ili kupljene od uzgajivača. Dagnje u uzgajalištima ribe vađene su pojedinačno, skidanjem s bova, užeta i sa samih kaveza ronjenjem na dah na dubini do 1 m. Dagnje u “slobodnom moru” vađene su iz mora ronjenjem na dah, skidane su s kamenja, zidića i sl. Za vađenje dagnji u slobodnom moru potrebno je kontaktirati lokalnu upravu (inspektorat) radi dobivanja odobrenja za vađenje i mjerjenje organizama (iako nisu zaštićeni), jer je konzumno vađenje ograničeno. Kontaktiran je ribarski inspektor koji je dao usmeno dozvolu za mjerjenje dagnji iz “slobodnog mora”.



Prilikom skupljanja dagnji sa svake lokacije, jedinke su odmah kategorizirane u tri veličine koristeći uobičajenu metodologiju razvijenu za potrebe uzgoja dagnji. Ovom kategorizacijom razlikuju se konzumne i male dagnje. U konzumne dagnje ubrajaju se srednje velike i velike dagnje. Veličine su uspoređene razlikama u visini, širini i debljini (slika 5). Veličine malih dagnji kretale su se u rasponu od 13-20 mm debljine, 30-60 mm visine te 20-32 mm širine. Veličine srednjih dagnji kretale su se u rasponu od 20-24 mm debljine, 60-67 mm visine i 32-36 mm širine. Veličine velikih dagnji bile su u rasponu od 24-33 mm debljine, 60-90 mm visine i 36-50 mm širine. Prikupljeni uzorak od 150 dagnji sa svake lokacije sadržavao je 50 malih, 50 velikih i 50 srednje velikih dagnji. Time su u prikupljenim uzorcima prisutne različite uzrasne strukture školjkaša. Način na koji se dagnje sortiraju u uzgajalištu podrazumijeva provlačenje dagnji kroz specijalizirani stol podijeljen na tri dijela (slika 6). Stol ima šipke koje su ovisno o dijelu uže ili šire postavljene; tako velike i srednje velike dagnje ostanu na stolu, a male padaju u kante postavljene ispod stola. Dagnje s uzgajališta riba i iz slobodnog mora podijeljene su u tri kategorije procjenom veličine prema standardima koji su izvježbani u uzgajalištima dagnji, no bez uporabe stola za odjeljivanje. Dagnje su uzorkovane u 9 sati a potom su držane u moru, u mrežastim vrećama do trenutka mjerena. Dagnje se prije mjerena osuše krpom kako voda ne bi oštetila mjernu opremu.

Parametri koji su mjereni digitalnom pomičnom mjerkom (*Alpha Tools* Digitalno pomično mjerilo) jesu: širina ljuštura, debljina ljuštura i visina ljuštura (slika 5). Ukupna masa školjkaša određena je digitalnom vagom (Kuhinjska vaga *Xavax Jewel*). Volumen je mjerен tako da se u menzuru u koju je uliveno 200 mL vode stavi dagnja te se oduzimanjem početnog volumena od konačnoga dobije volumen. Opseg jedinki mjerjen je tako da se konac obavije oko najšireg dijela dagnje te se metrom izmjeri duljina konca koji je bio obavljen oko dagnje.



Slika 5 Prikaz širine (crveno), visine (zeleno) i debljine (žuto) dagnji



Slika 6: Uvećani prikaz stola korištenog za sortiranje dagnji (izvor: Boje zemlje: Uzgoj dagnji u Raškom zaljevu 2020)

Obrada podataka

Izračunata je: prosječna, maksimalna i minimalna visina, širina, debljina, volumen, opseg i masa dagnji za svaku od triju skupina istraživanih lokacija prema formuli: Prosječna veličina = $\frac{\text{zbroj svih}}{\text{broj uzoraka}}$



Standardno odstupanje (SD) računa se, kako bi se uvidjelo postoji li značajna razlika između mjerenih parametara, prema formuli : $SD = \frac{\sum |x - \bar{x}|^2}{broj uzoraka}$.

Pri tome je:

x - vrijednost jedne veličine (debljina, visina, širina, masa, volumen, opseg)

\bar{x} - vrijednost prosjeka jedne veličine (debljina, visina, širina, masa, volumen, opseg)

Prosječne, maksimalne i minimalne veličine te standardne devijacije svake lokacije prikazane su grafički. Korišten je takozvani "box and whisker plot".

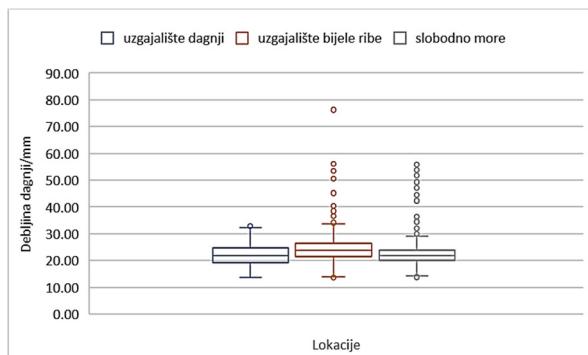
Za utvrđivanje značajnosti statističke razlike između pokusnih skupina korišten je ANOVA test koji testira razliku među pokusnim skupinama podataka, pri čemu se utvrđuje je li varijabilnost između skupina veća od varijabilnosti unutar skupine podataka. Kako bi se odredilo za koju je pokusnu skupinu značajna statistička razlika, izvodi se i *Tukey HSD post hoc test* koji uspoređuje razlike svake skupine sa svakom te utvrđuje između kojih je pokusnih skupina prisutna koja razina značaja razlika.

Razina značajnosti za uzorce određena je uspoređivanjem s F-kritičnom vrijednošću. Ako je F-statistika veća od F-kritičnog za $p = 0,05$, onda je varijacija između grupa statistički značajna (Kazerouni 2009).

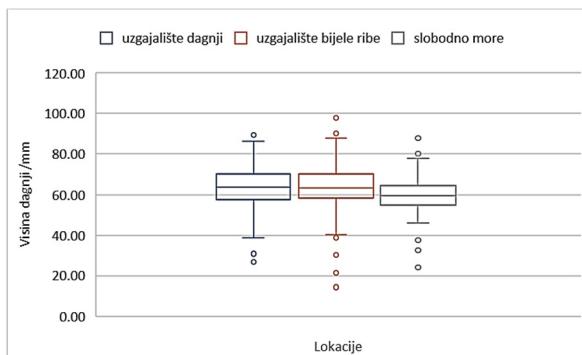
Analize i grafovi napravljeni su pomoću Microsoft Excel programa.

REZULTATI

Rezultati rada ukazuju na to da je prosječna debljina školjke bila najveća kod dagnji uzorkovanih u uzgajalištu bijele ribe (slika 7).



Slika 7 Usporedba prosječne, minimalne i maksimalne debljine dagnji ovisno o vrsti uzgoja



Slika 8 Usporedba prosječne, minimalne i maksimalne visine dagnji ovisno o tipu uzgoja

ANOVA testom utvrđeno je da su razlike u debljini školjke dagnji uzorkovanih s uzgajališta dagnji, uzgajališta ribe i slobodnog mora statistički značajne ($F = 26,53$, $p < 0,0001$).

Daljnja analiza upotrebom *Tukey HSD post hoc* testa pokazala je značajne razlike između debljina sa svim triju lokacija tj. usporedbom svih triju vrijednosti zasebno utvrđeno je da je kod svih $p < 0,0001$.

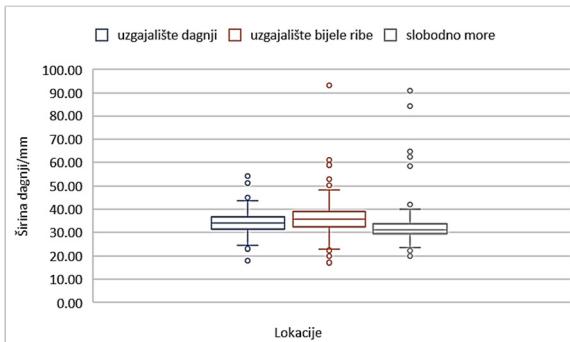
Slika 8 prikazuje da su dagnje u uzgajalištima više u odnosu na one u slobodnom moru, iako su u slobodnom moru vidljivi minimumi visina koji su veći u odnosu na ostale lokacije.

ANOVA testom utvrđeno je da su razlike u visini školjke dagnji uzorkovanih s uzgajališta dagnji, uzgajališta ribe i slobodnoga mora statistički značajne ($p < 0,0001$, $F = 26,41$). Daljnja analiza

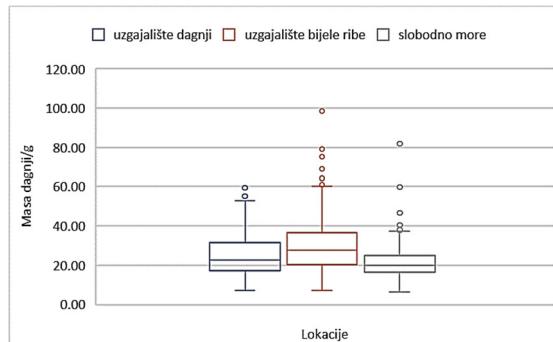


upotrebom *Tukey HSD post hoc* testa pokazala je nema značajne razlike između visine dagnji iz uzgajališta dagnji i uzgajališta bijele ribe ($p < 0,05$).

Rezultati prikazani na slici 9 ukazuju na to da je prosječna širina školjke najveća kod dagnji uzorkovanih u uzgajalištu bijele ribe s ujedno većim maksimalnim širinama, ali i većom rasparenošću podataka (SD).



Slika 9 Usporedba prosječne, minimalne i maksimalne širine dagnji ovisno o tipu uzgoja



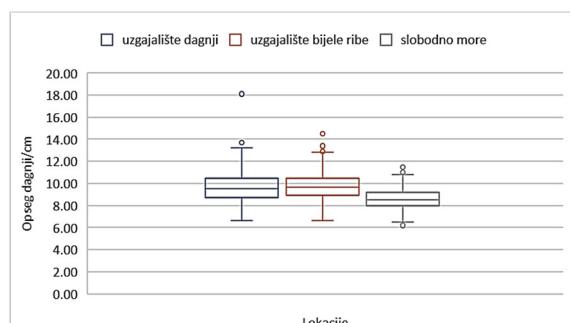
Slika 10 Usporedba prosječne, minimalne i maksimalne mase dagnji ovisno o tipu uzgoja

ANOVA testom utvrđeno je da su razlike u širini školjke dagnji uzorkovanih s uzgajališta dagnji, uzgajališta ribe i slobodnog mora statistički značajne ($F = 45,64$, $p < 0,0001$). Daljnja analiza upotrebom *Tukey HSD post hoc* testa pokazala je značajne razlike između širina sa svih triju lokacija tj. usporedbom svih triju vrijednosti zasebno utvrđeno je da je kod svih $p < 0,0001$.

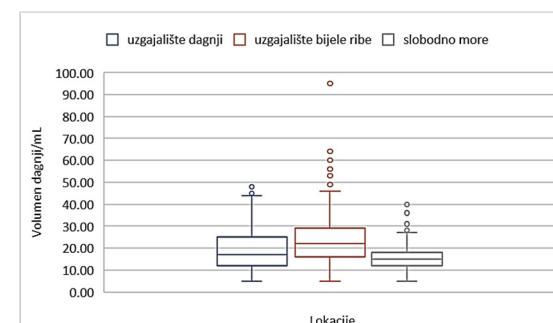
Rezultati prikazani slikom 10 prikazuju da je prosječna masa školjke bila najveća u dagnji uzorkovanih u uzgajalištu bijele ribe s ujedno najvećim raspršenjem podataka (SD).

ANOVA testom utvrđeno je da su razlike u masi školjke dagnji uzorkovanih s uzgajališta dagnji, uzgajališta ribe i slobodnog mora statistički značajne ($F = 71,10$, $p < 0,0001$). Daljnja analiza upotrebom *Tukey HSD post hoc* testa pokazala je značajne razlike između masa sa svih triju lokacija tj. usporedbom svih triju vrijednosti zasebno utvrđeno je da je kod svih $p < 0,0001$.

Slikom 11 prikazana je razlika u opsegu dagnji koja je najmanja za dagnje iz slobodnoga mora.



Slika 11 Usporedba prosječnog, minimalnog i maksimalnog opsega ovisno o tipu uzgoja



Slika 12 Usporedba prosječnog, minimalnog i maksimalnog volumena ovisno o tipu uzgoja

ANOVA testom utvrđeno je da su razlike u opsegu školjke dagnji uzorkovanih s uzgajališta dagnji, uzgajališta ribe i slobodnog mora statistički značajne ($p < 0,0001$, $F = 126,57$). *Tukey HSD post hoc* test pokazao je značajne razlike između opsega dagnji s uzgajališta dagnji i iz slobodnog mora te uzgajališta ribe, no razlike između opsega dagnji iz uzgajališta dagnji i uzgajališta bijele ribe nisu značajne ($p <$



0,05). Iz slike 12 može se vidjeti da su dagnje iz uzgajališta bijele ribe većeg volumena u odnosu na dagnje ostalih tipova uzgoja.

ANOVA testom utvrđeno je da su razlike u volumenu školjke dagnji uzorkovanih s uzgajališta dagnji, uzgajališta ribe i slobodnoga mora statistički značajne ($F = 84,72$, $p < 0,0001$) a analiza upotrebom *Tukey HSD post hoc* testa pokazala je značajne razlike između volumena dagnji sa svih triju lokacija tj. usporedbom svih triju vrijednosti zasebno utvrđeno je da je kod svih $p < 0,0001$.

Prosječno se veličine dagnji razlikuju u 5-7 mm debljine, visine i širine, 10 g mase i 10 mL volumena. Prosječni opsezi dagnji sa svih lokacija podjednaki su.

RASPRAVA

Hipoteza ovoga istraživanja većinski je potvrđena i u skladu je s rezultatima koje su dobili Sara i suradnici (2009), gdje je potvrđen utjecaj kavezognog uzgoja na duljinu, težinu i biomasu. Pripisan je izravnoj organskoj emisiji potrebnoj za rast dagnji. Veći unos nutrijenata kod dagnji sa uzgajališta bijele ribe potvrđuju Gvozdenović i sur. (2017), MacDonald i sur. (2011) te Stirling i Okumug (1995). U spomenutim radovima govori se o povećanoj koncentraciji energetskog sadržaja suspendiranih čestica uzorkovanih na trima lokacijama uzgajališta ribe. To se povezuje s viškom ribilje hrane, a ne s lokaliziranim povećanjem koncentracije fitoplanktona. Rezultati pokazuju da dagnje imaju sposobnost hvatanja i apsorbiranja viška hrane u obliku čestica ribe koja se oslobađa iz uzgajališta lososa, čime se potencijalno smanjuje proces nitrifikacije. MacDonald (2011) je uspoređivao veličine dagnji uzgojenih na različitim udaljenostima od uzgajališta ribe. Dobio je manje razlike u veličini, no ostali radovi uspoređuju uzgajališta ribe s uzgajalištima dagnji te dobivaju značajne razlike. Wallace (1980) govori o čak dva puta većim dagnjama uz uzgajališta riba. Također spominje neprekinuti rast ljuštare, za razliku od ostatka lokacija. To također pripisuje količini dostupnih nutrijenata ovisno o godišnjim dobima, gdje će dagnje s uzgajališta riba konstantno imati dostupne nutrijente čime se omogućuje neometan rast ljuštare organizma. Rast ljuštare dagnji ovisi o mnogim čimbenicima; salinitetu mora, temperaturi mora, količini fitoplanktona i dr. Unatoč mnogim čimbenicima, većina gore navedenih radova primarno se usredotočuje na unos nutrijenata. Wallace (1980) tvrdi da su dagnje sa uzgajališta riba veće zbog razdoblja između listopada i travnja kada je rast ljuštare dagnji zaustavljen. To se događa zbog manjka nutrijenata u moru potrebnih za stvaranje energije za rast. Dagnje sa uzgajališta riba imaju dostupnu potrebnu količinu nutrijenata te zbog toga mogu nastaviti rast svoje ljuštare. Time dobivaju 6 mjeseci dužeg rasta od dagnji s uzgajališta dagnji ili slobodnoga mora. Istraživanje koje su proveli Honghua Shi i sur. (2013) potvrđuje ekonomsku i ekološku učinkovitost IMTE. Jedan od glavnih faktora koje su promatrali bio je ESI (*Environmental Sustainability indeks*, indeks održivosti okoliša) te faktor troška i dobiti. Promatrali su monokulturu kelpa, monokulturu češljača te polikulturu (IMTA) češljača i kelpa. IMTA je imala najveći ESI te najveći trošak-dobit omjer. Iz tog je zaključeno da je IMTA optimalan i time najprihvatljiviji način uzgoja kao oblika održivog gospodarenja hranom i resursima.

Rezultati bi bili pouzdaniji uvođenjem specifičnije raspodjele dagnji po veličini te uračunavanjem starosti dagnji. Točnjim rezultatima pridonijelo bi da su sve dagnje smatrane velikima bile iste starosti, sve dagnje smatrane srednjima iste starosti i sve dagnje smatrane malima iste starosti. Također bi možda pomoglo da se dagnje korištene u istraživanju ograde od vanjskih utjecaja koji bi mogli poremetiti rezultate.

**ZAKLJUČCI**

- postoji razlika u veličinama dagnji s uzgajališta dagnji i uzgajališta bijele ribe
- dagnje s uzgajališta dagnji mnogo su ujednačenije po veličini od onih s uzgajališta bijele ribe gdje njihove veličine jako variraju
- dagnje s uzgajališta bijele ribe statistički su značajno veće od onih s uzgajališta dagnji prema parametrima debljine, širine, mase i volumena
- dagnje s uzgajališta bijele ribe i uzgajališta dagnji statistički se ne razlikuju prema visini i opsegu.

ZAHVALA

Posebne zahvale uputila bi ponajprije mentorici Mihaeli Marceljak Ilić na strpljivom vođenju kroz rad; Ani Peroš, zaposlenici Cromarisa koja je bila iznimna pomoć u kontaktiranju vlasnika uzgajališta ribe; Ivici Majiću, ribarskom inspektoru na nadzoru i na svim pravnim i zakonskim naputcima vezanim uz izranjanje dagnji; Duji Šarlji, jednom od najpoznatijih malih uzgajivača dagnji u Hrvatskoj te njegovoj obitelji za prve informacije o dagnjama i njihovom uzgoju. Naposljetku htjela bih zahvaliti svim prijateljima i obitelji, a posebno majci koja je financirala moje istraživanje i pratila me tokom cijelog istraživanja.

LITERATURA

- Banacos P. C. 2011. Box and Whisker Plots for Local Climate Datasets: Interpretation and Creation using Excel 2007/2010. National Oceanic and Atmospheric Administration <https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/6605>, pristupljeno 19.3.2022.
- Bonham V. 2017. *Mytilus galloprovincialis* (Mediterranean mussel): Cabi. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/73756>, pristupljeno 29.1.2022.
- Gvozdenović S., Mandić M., Pešić V., Nikolić M., Pešić A., Ikica Z. 2017. Comparison between IMTA and monoculture farming of mussels (*Mytilus galloprovincialis* L.) in the Boka Kotorska Bay. Hrčak, pristupljeno 18.4.2022.
- Kazerouni A. M. 2009. Design and Analysis of Gauge R&R Studies: Making Decisions Based on ANOVA Method. World Academy of Science, Engineering and Technology 52, pristupljeno 19.3.2022.
- MacDonald B.A., Robinson R.M.C., Barrington K.A. 2011. Feeding activity of mussels (*Mytilus edulis*) held in the field at an integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) site (*Salmo salar*) and exposed to fish food in the laboratory. ScienceDirect, pristupljeno 18.4.2022.
- Opcina-starigrad: Uzgoj daganja. <http://www.opcina-starigrad.hr/HTML/Uzgoj%20daganja.html>, pristupljeno 14.8.2021.
- Sarà G., Zenone A., Tomasello A. 2009. Growth of *Mytilus galloprovincialis* (mollusca, bivalvia) close to fish farms: a case of integrated multi-trophic aquaculture within the Tyrrhenian Sea. Hydrobiologia 636: 129–136, pristupljeno 12.3.2022.
- Schultz D. M. 2009. A Practical Guide to Becoming a Better Writer, Speaker, and Atmospheric Scientist. Amer. Meteor. Soc., 440 pp. Eloquent Science, pristupljeno 19.3.2022.
- Shi H., Zheng W., Zhang X., Zhu M., Ding D. Ecological-economic assessment of monoculture and integrated multi-trophic aquaculture in Sanggou Bay of China. ScienceDirect, pristupljeno 24.2.2022.
- Stirling H. P., Okumug I. 1995. Growth and production of mussels (*Mytilus edulis* L.) suspended at salmon cages and shellfish farms in two Scottish sea lochs. ScienceDirect, pristupljeno 18.4.2022.
- Šarlija D. 2021. Pers. comm.
- Šverko B. 2016. Mogućnosti primjene integrirane multитrofičke akvakulture (IMTA) u Republici Hrvatskoj. Zbornik Sveučilišta u Dubrovniku: 207-211 , pristupljeno 9.8.2021
- Wallace J.C. 1980. Growth rates of different populations of the edible mussel, *Mytilus edulis*, in north Norway. ScienceDirect, pristupljeno 18.4.2022.



Prisutnost mikroplastike u zaštićenom i nezaštićenom akvatoriju zapadne obale Istre

Lucija Glavičić Marović, 2. razred

XV. gimnazija, Zagreb

Mentor: **Mihaela Marceljak Ilić**

SAŽETAK

Ovo istraživanje provedeno je na četiri lokacije: dvije u zaštićenom morskom području nacionalnog parka (NP) Brijuni (Peneda (PN) i Sveti Jerolimov (SJ)) i dvije u nezaštićenom morskom području u široj okolini Pule (Kockica (KC) i Svjetionik (SV)), s uzorkovanjem na površini mora i dubinama od 10 i 20 metara. Cilj ovog istraživanja je utvrditi prisutnost, tipove, boju, veličinsku kategoriju te broj čestica mikroplastike u zaštićenom i nezaštićenom akvariju zapadne obale Istre. Dodatni cilj istraživanja je utvrditi može li se prisutnost i broj čestica mikroplastike u uzorku povezati sa zaštićenim i nezaštićenim morskim područjima, zamućenjem mora, biocenozom morskog dna i cvjetanjem algi. Na svim lokacijama i dubinama uzorkovanja pronađene su čestice mikroplastike. No broj čestica mikroplastike značajno je veći u nezaštićenim morskim područjima u odnosu na zaštićena morska području, na što nedvojbeno utječe blizina grada Pule kao jednog od najvećeg jadranskog i najvećeg hrvatskog zagađivača plastičnim otpadom. Iako se razlikuju po broju, identificirane čestice mikroplastike su na svim lokacijama slične po obliku, veličini i boji. Prema obliku prevladavaju fragmenti s udjelom od 61,2%, prema veličini prevladavaju manje čestice od 500–100 µm s udjelom od 75,3 %, a prema boji prevladavaju siva boja s udjelom od 24,7 % i plava boja s udjelom od 23,5 %. Statističkom analizom utvrđen je negativan odnos između zamućenja mora i broja čestica mikroplastike. Primijećeno je bentonsko cvjetanje alge *Acinetospora crinita*, te komadići mrtve alge *Cystoseira compressa*, no cvjetanje algi u ovom istraživanju nije povezano s brojem čestica mikroplastike.

Ključne riječi: mikroplastika onečišćenje plastikom, Jadransko more, zaštićena morska područja, zamućenje mora, cvjetanje algi

UVOD

Posljednjih godina sve veća prisutnost mikroplastike u morskom okruženje izaziva sve veću zabrinutost, posebice s obzirom na rasprostranjenost u vodi, sedimentu i bioti. Službena definicija mikroplastike glasi da su to čestice plastike manje od 5 mm (Arthur i sur., 2009; Hanke i sur., 2013).

Mikroplastika kroz hranidbeni lanac dospijeva u sve dijelove ekosustava, a potvrđeno je prisustvo u raznim živim organizmima (Bule i sur., 2020). Sredozemno more jedno je od područja koje je najviše izloženo onečišćenju mikroplastikom koja ima negativni učinak na ljudsko zdravlje (Llorca i sur., 2020). Prisustvo mikroplastike u ribama koje se koriste za ljudsku konzumaciju, a ulovljene su u Jadranskom moru potvrđeno je u nekoliko istraživanja (Barišić i Rusković, 2016; Mistri i sur., 2022).

Jadransko more jedno je od najonečišćenijih dijelova Sredozemnog mora mikroplastikom, posebice sjeverni dio Jadranskog mora (Bule i sur.m 2020). U nedavno objavljenom istraživanju (Schmid i sur., 2021) analizirana su 53 znanstvena rada u kojima su izloženi rezultati o prisustvu mikroplastike i makroplastike u Jadranskom moru. Usprkos činjenici da je velik broj znanstvenih radova financiran iz sredstva EU te da većina koriste službenu EU metodologiju u svom istraživačkom pristupu (Hanke i sur., 2013), rezultate istraživanja nije moguće usporediti radi razlika u ciljevima i metodologiji. No sva istraživanja dokazuju da je mikroplastika široko rasprostranjena u Jadranu.

Mikroplastika je prisutna na obali (supralitoral), površini mora i stupcu mora (pelagijal), dnu mora (bentos) i živim organizama (biota). Većina (42 %) istraživanja provedena je prikupljanjem uzoraka



sedimenta, odnosno bentosa, a ostatak prikupljanjem uzorka s plaža (36 %) ili iz biote (18 %), a relativno manji dio iz pelagijala.

Liubartseva i sur. (2016a) procjenjuju koji su izvori onečišćenja mikroplastikom u Jadranskom moru – 40 % čine rijeke, 40 % obalni gradovi i 20 % brodovi. Pojedinačno, rijeka Po vjerovatno najviše pridonosi onečišćenju Jadranskog mora. Nakon ulaska u Jadransko more, mikroplastika u početku većinom pluta nošena strujama koje u Jadransko more dolaze iz Otrantskih vrata i kreću se prvo uzduž albanske, crnogorske i hrvatske obale od juga prema sjeveru, a zatim iz tršćanskog zaljeva na krajnjem sjeveru uzduž talijanske obale prema jugu. Brojna fizička i kemijska svojstva utječe na plutanje ili potonuće čestica mikroplastike, no većina čestica mikroplastike u početku pluta radi gustoće polimera koja je u pravilu manja od vode. S vremenom se na česticama stvara biofilm od mikroorganizama, tako da nakon nekog vremena gustoća postaje veća od morske vode i čestice mikroplastike padaju na dno (Guo i Wang, 2019). U prosjeku taj proces traje 43,5 dana (Liubartseva i sur., 2016a). Stoga je za očekivati da su koncentracije mikroplastike najveće u bentosu, a velik dio završava i na obali (Liubartseva i sur., 2016a). Iako turizam nesumnjivo općenito utječe na onečišćenje mora, a time i na onečišćenje mikroplastikom, koncentracije onečišćenja i mikroplastike najveće su zimi, a najmanje ljeti (Liubartseva i sur., 2016a).

Nekoliko istraživačkih radova bavi se prisustvom mikroplastike u zaštićenim morskim područjima (Renzi i sur., 2018; Blašković i sur., 2017).

Renzi i sur. (2018) uspoređuju uzorce relativno plitkog dna (5-18 m) zaštićenih (Grebena) i nezaštićenih morskih područja (Silba). Glavni rezultat tog istraživanja je da je količina pronađene mikroplastike usporediva na oba područja, što ne govori u prilog efikasnosti zaštite morskih područja od onečišćenja mikroplastikom. No veličina i kategorizacija čestica mikroplastike se razlikuju između dva područja. U zaštićenom morskom području (Grebena) prevladavaju manje čestice (500–100 µm) i to fragmenti i filamenti. U nezaštićenom morskom području (Silba), mikroplastika je pretežito prisutna u većim česticama (2000–500 µm) i radi se pretežito o filamentima.

Blašković i sur. (2017) istražili su prisutnost, količinu i karakteristike mikroplastike na području zaštićenog morskog područja nacionalnog parka Telašćica. To istraživanje je provedeno u prosincu 2015., te je utvrđena prisutnost mikroplastike na svih 10 lokacija s kojih je uzorkovan sediment s dubina 3-15m. Dvije lokacije prema otvorenom moru imaju najmanje količine mikroplastike, no činjenica da je mikroplastika potvrđena na svih 10 lokacija i u ukupno 30 uzoraka potvrđuje da zaštićena morska područja ne pružaju efikasnu zaštitu od onečišćenja mikroplastikom. Dubina s koje su uzorci sedimenta preuzeti nije utjecala na rezultate, a na svim lokacijama prevladavali su filamenti (90,7 % svih čestica), te čestice manje od 1 mm (88,79 %). Čak četvrtina uzorka (25,13 %) je bilo prozirno, a ostale prevladavajuće boje su bijela (22,25 %) i crna (15,30 %). Svojstvo boje je važno naglasiti kako bi se istaknula zahtjevnost istraživanja i sposobnost uočavanja i identifikacije čestica mikroplastike.

Čini se da je mikroplastika prisutna u svim tipovima sedimenata, neovisno o vrsti dna i biocenosi. Istraživanjem provedenom u sjevernom Jadranu nije utvrđena statistička povezanost prisutnosti mikroplastike i vrste dna (Renzi i sur., 2018).

Područje sjevernog Jadrana izloženo je brojim epizodama cvjetanja algi. Iveša i sur. (2021) proučavali su na području zapadne obale Istre (proljeće 2016) utjecaj bentonskog cvjetanja alge *Acinetospora crinita* koja stvara voluminozne sluzave nakupine s povišenim koncentracijama amonijaka, a to ubija



drugu algu *Cystoseira compressa*. Takve promjene najčešće se odvijaju nezapaženo s obzirom da se radi o promjenama na morskom dnu, a odvijaju se tijekom proljeća i ranog ljeta, te su sve učestalije i smatraju se posljedicom klimatskih promjena i globalnog zatopljenja. Iako još nije istraženo u Jadranskom moru, prisustvo cvjetanja morskih algi moglo bi utjecati na povećane koncentracije mikroplastike u pelagijalu.

Izuzetno malo studija bavi se povezanosti dvije pojave koje u svim svjetskim morima postaju sve učestalije: cvjetanje algi i prisutnost mikroplastike. Jedna od rijetkih studija (Feng i sur., 2020) dokazuje da cvjetanje algi može povećati količinu prisutne mikroplastike. Pri istraživanju cvjetanja alge *Ulva prolifera* u Žutom moru, dokazane su 595-3917 puta veće koncentracije mikroplastike uz pojavu cvjetanja algi. To je stoga što cvjetajuće alge mogu zarobiti čestice mikroplastike upletanjem, pričvršćivanjem, ugradnjom i zamotavanjem. S druge strane, sama mikroplastika uzrokuje smanjenje brzine rasta i kretanja algi, obavljanje fotosinteze, fizičke deformacije te dolazi do smanjenja plodnosti i promjena u metaboličkim ciklusima (Bule i sur., 2020).

Prisutnost cvjetanja algi utječe i na zamućenje mora. Podvodne morske struje često dobivaju naziv i „zamućene“ struje (eng. turbidity currents), budući da na svom putu prikupe brojne čestice sedimenta, a tako i pridonose kretanju čestica mikroplastike morima (Pohl i sur., 2020).

Prethodni istraživački projekt potaknuo je ovo istraživanje, čiji je cilj utvrditi prisutnost, tipove, boju, veličinsku kategoriju te broj čestica mikroplastike u zaštićenom i nezaštićenom akvariju zapadne obale Istre. Dodatno, bit će istražen o da li se prisutnost i broj čestica mikroplastike u uzorku mogu povezati sa zaštićenim i nezaštićenim morskim područjima, zamućenjem mora, biocenozom morskog dna i cvjetanjem algi.

Na temelju rezultata prethodnih istraživanja moguće je postaviti sljedeće pretpostavke:

- ➊ Mikroplastika je prisutna na svim lokacijama i dubinama;
- ➋ Broj čestica mikroplastike je veća u nezaštićenom morskom području, bliže obali, a najmanje u zaštićenom morskom području izloženom otvorenom moru;
- ➌ Broj čestica mikroplastike je veća u uzorcima prikupljenim blizu morskog dna naspram uzorcima s površine mora;
- ➍ Broj čestica mikroplastike je veća uz povećano zamućenje vode;
- ➎ Broj čestica mikroplastike je veća uz prisustvo i intenzitet cvjetanja algi.

METODE

Područje istraživanja

Za područje istraživanja odabrane su ukupno četiri lokacije: dvije u zaštićenom morskom području nacionalnog parka (NP) Brijuni (Peneda (PN) i Sveti Jerolimov (SJ)) i dvije u nezaštićenom morskom području u široj okolini Pule (Kockica (KC) i Svjetionik (SV)). Peneda (PN) se nalazi pored istoimenog rta u uvali Verige na otoku Veli Brijun, te je od svih odabralih lokacija najviše okrenuta prema otvorenom moru. Sveti Jerolimov (SJ) se nalazi u neposrednoj blizini istoimenog otočića, u sastavu Brijuna. Kockica (KC) je na jugoistočnoj strani Fratarskog otoka, a Svjetionik u blizini hotelske plaže na krajnjem jugu poluotoka Verudela. Slika 1 prikazuje lokacije prikupljanja uzoraka.



Slika 1 Lokacije prikupljanja uzoraka na zaštićenom (Peneda (PN), Sv. Jerolim (SJ)) i nezaštićenom (Kockica (KC), Svjetionik (SV)) akvatoriju zapadne obale Istre na području NP Brijuni i okolic Pule (izvor: Google Earth, 2022)

Prikupljanje uzorka

Ovo istraživanje provedeno je korištenjem metode predložene od Sutti i sur. (2021), s obzirom da se radi o znanstveno utemeljenoj metodi prilagođenoj učenicima srednjih škola i studentima. Ta je metoda bazirana na standardima organizacije NOAA Marine Debris Program i prvim postavljenim temeljima za definiciju i identifikaciju problema mikroplastike u morima (Arthur i sur., 2009). Metode istraživanja prikazane u Hanke i sur. (2013) koje predstavljaju EU standard nisu primjerene učeničkom istraživanju radi složenosti postupka i korištenja skupe i nedostupne opreme. U ovom istraživanju korišteno je prethodno iskustvo sudjelovanja u Natjecanju iz biologije u kategoriji istraživačkih projekata i terenskog rada koje je olakšalo i ubrzalo uzorkovanje.

Uzorci morske vode prikupljeni su na svakoj lokaciji s tri različite dubine: 20 m, 10 m i na površini mora. Svi uzorci predstavljaju dio pelagijala, odnosno stupca vode. Uzorci s dubine 20 m i 10 m prikupljeni su korištenjem ronilačke opreme, a na površini mora uzorak je prikupljen s broda udaljenog između 10 i 35 m od obale. Ronjenje s autonomnim ronilačkim aparatom (SCUBA ronjenje) je zahtjevno i opasno, te je na prvom mjestu sigurnost ronioca koji je prošao ronilački tečaj. S obzirom na položen PADI Open Water Junior tečaj ronjenja te uz prethodno iskustvo provođenja istraživanja podmorja, ovo istraživanje je bilo moguće provesti uz finansijsku i organizacijsku podršku mojih roditelja. U ovom istraživanju, sudjelovala su dva ronioca u pratnji, a osim mene na ronjenju je sudjelovao instruktor ronjenja.

Sa svake dubine prikupljena su ukupno tri spremnika prethodno označena vodonepropusnim markerom i oznakom lokacije i dubine. Ukupno je uzorkovano po 36 spremnika. Spremni od 500 ml (prethodno ispraznjene boce vode Jane) korišteni su za prikupljanje uzorka morske vode koji će biti analizirani na prisustvo mikroplastike. Kako bi se spremnik od 500 ml napunio na dubinama od 20 m i 10 m, gdje je pritisak tri puta veći (3 ATM na 20 m) odnosno dva puta veći (2 ATM na 10 m) u odnosu na površinu mora (1 ATM na 0m), prije zarona su svi spremnici bili ispunjeni morskom vodom na površini mora, te stavljeni u ronilačku vreću zakačenu na ronilačku opremu. Prilikom dolaska na željenu dubinu, korišten je pričuvni regulator te je spremnik okrenut naopačke tako da je otvor okrenut prema dnu mora. Zatim je iz pričuvnog regulatora pušten komprimirani zrak da ispunii sadržaj spremnika. Zrak je pri tome izbacio postojeću vodu, te u potpunosti ispunio sadržaj spremnika. Spremnik je zatim



preokrenut otvorom prema gore, kako bi se ispunio uzorkom morske vode na željenoj dubini. Potom je spremnik čvrsto zatvoren poklopcem i spremljen u ronilačku torbu. Posebna je pažnja pridana oznakama lokacija i dubina za koje je korišten vodonepropusni marker kako se uzorci ne bi pomiješali.

Spremni od 100 ml (prethodno sterilizirani) s plavim čepom korišteni su za prikupljanje uzoraka iz kojih će se analizirati zamućenje vode. Spremni od 100 ml (prethodno sterilizirani) s crvenim čepom korišteni su za prikupljanje uzorka plutajućih algi na području nezaštićenog morskog područja (lokacije Kockica (KC) i Svjetionik (SV).

Prilikom prikupljanja uzoraka mjerena je temperatura mora pomoću ronilačkog kompjutera. Procijenjen je intenzitet i prisutnost cvjetanja algi pomoću indeksa raspona vrijednost od 0-nije prisutno do 5-intenzivno prisutno, te su prikupljeni i fotografirani uzorci s nezaštićenog morskog područja. Identificirana je vrsta algi koja je opažena pomoću baze slika algi (Guiry i Guiry, 2022). Biocenoza dna je klasificirana sukladno službenoj metodologiji (Bakran-Petricoli, 2011). Zabilježena su ostala opažanja koja uključuju vremenske uvjete, prisutnost naoblake, te jačinu i prisutnost morskih struja koja je procijenjena u rasponu kategorija od 0-nije prisutno do 5-intenzivno prisutno. Sva opažanja zabilježena su neposredno prije ili neposredno nakon ronjenja i uzorkovanja na lokaciji u prethodno izrađenu tablicu.

Nakon uzorkovanja, čim je bilo praktično moguće, uzorci u svim prikupljenim spremnicima su zamrznuti na temperaturu od -25 °C. Uzorci su pokretnim zamrzivačem u zamrznutom stanju transportirani do Zagreba za provođenje analiza.

Istraživanje je provedeno u lipnju 2021. u okolini Pule, a slike 2 i 3 prikazuju snimke terenskog rada.



Slika 2 Uzimanje uzorka mora na terenu na dubini od 20 m u spremnik od 500ml



Slika 3 Terenski rad prije zarona na lokaciji rt. Peneda, NP Brijuni (slika prikazuje učenicu i instruktoricu ronjenja)

Analize uzoraka vode

Odmah po dolasku u Zagreb analizirani su uzorci za zamućenje morske vode uz prethodno odmrzavanje preko noći. Uz dozvolu škole i mentora, Hrvatski zavod za javno zdravstvo zamoljen je da dozvoli provođenje analize korištenjem njihovog mjernog uređaja za turbiditet (model HACH 2100P) te nakon kraćih uputa o korištenju ovog uređaja, izvršena je analiza zamućenosti morske vode, a rezultati od ukupno 12 uzoraka označenih po lokacijama i dubinama upisani su u tablicu.

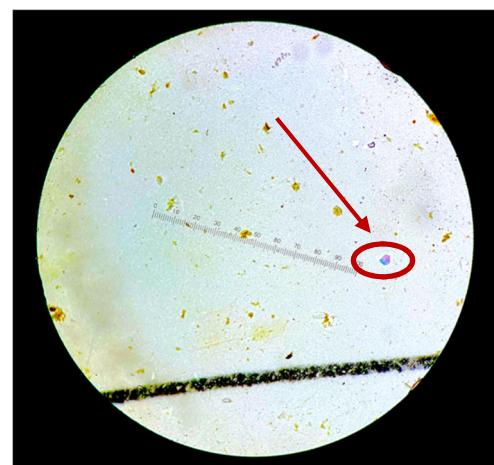
U razdoblju između 18. i 22. srpnja 2021., prethodno odmrznuti spremnici morske vode od 500 ml filtrirani su u školskom laboratoriju. Od opreme su korišteni: aparatura za filtriranje (sastoji se od lijevka za vakuum filtraciju, vakuum pumpe), iscrptana filter membrana promjera 47 mm i širine pore 0,45 µm, Petrijeve zdjelice promjera 55 mm, pinceta, sterilna šprica, ionizirana voda, markeri i lateks rukavice. Kako bi se spriječila kontaminacija, provedeno je niz mjera koje su uključivale čišćenje stola alkoholom,



korištenje bijele kute, vezanje kose, odsustvo šminke i laka za nokte, korištenje lateks rukavica. Morska voda iz spremnika od 500 ml prenesena je u lijevak s membranskim filterom za vakuum filtraciju koji je spojen na vakuum pumpu, a nakon filtracije čestice veće od širine pore membrane ($0,45 \mu\text{m}$) ostale su na samoj membrani. Kada je sav uzorak profiltriran dodano je 10 ml ionizirane vode te je završena filtracija, membrana je premještena u Petrijevu zdjelicu koja je označena šifriranom oznakom za lokaciju i dubinu. Prilikom filtracije posebno se pazilo da se uzorci ne pomiješaju i ne kontaminiraju, a između filtracije svakog uzorka aparat za filtriranje pročišćen je ioniziranim vodom uz pomoć šprice. Slika 4 prikazuje aparat za filtraciju i potreban pribor.



Slika 4 Aparat za filtraciju u školskom laboratoriju s ostalom potrebnom opremom



Slika 5 Čestica mikroplastike u pripremljenom uzorku pri povećanju od $100 \times$ sa skalom. Na slici je prikazana čestica mikroplastike oblika fragmenta, veličine ($<100 \mu\text{m}$) i roza boje

Membrane s filtratom su nakon toga analizirane uz pomoć školskog mikroskopa modela Olympus CX23 koristeći povećanje $100\times$. Prije analize uzorka mikroplastike, proučen je protokol (Sutti i sur., 2021), način identifikacije mikroplastike te slike uzorka mikroplastike u različitim oblicima (fragmenti, filamenti, film i drugo). S obzirom da su filteri s mikroplastikom analizirani pod mikroskopom, a mjerena je i veličina čestica, izmjerene su linije iscrtane mreže filtera. Mjerjenje je napravljeno pomoću mjerne skale u okularu mikroskopa na kojoj pri povećanju od 100 puta dvije razdiobe skale označavaju duljinu od $10 \mu\text{m}$, kako je navedeno prema uputama o korištenju proizvođača. Tako izmjerena debljina linije ($25 \mu\text{m}$) mreže filtera korištena je za određivanje veličinske kategorije čestica mikroplastike. Za svaku identificiranu čestice mikroplastike, osim veličinske kategorije, određen je oblik, boja, te broj čestica u uzorku od 500 ml mora. Broj čestica mikroplastike u uzorku od 500 ml mora je određena prebrojavanjem svih identificiranih čestica mikroplastike na membrani s filtratom. Prikupljeni podaci upisani su u tablicu za svih 12 uzoraka. Slika 5 prikazuje identificiranu česticu mikroplastike.

Analiza podataka

Za svaku lokaciju prikupljeni su različiti podaci (ukupno deset varijabli, od čega su uz mikroplastiku vezane broj, oblik, vrsta, boja i veličinska kategorija čestica) te su uneseni u tablice. Za testiranje povezanosti broja čestica mikroplastike i vrijednosti zamućenja vode korištena je statistička analiza. Prosječna vrijednost mjerenih parametara u uzorcima izračunata je tako da je zbroj svih izmjerenih čestica podijeljen s brojem ukupno prikupljenih uzoraka, posebno za dvije zasebne grupe uzorkovane u zaštićenim i nezaštićenim morskim područjima. Prilikom izračuna prosječne vrijednosti korištena je funkcija AVERAGE u Excelu. Također je izračunata standardna devijacija dvije zasebne



grupe uzoraka uzrokovane u zaštićenim i nezaštićenim morskim područjima. Standardna devijacija izračunata je uz pomoć funkcije STDEV u Excelu koja je temeljena na formuli:

$$\text{Prosječna vrijednost} = \frac{\sum a_i}{n}$$

$$\text{Standardna devijacija} = \sqrt{\frac{\sum (a_i - \bar{a})^2}{(n - 1)}}$$

gdje je a = broj identificiranih čestica u uzorcima $i = 1,2,3,\dots$, \bar{a} je prosječna vrijednost izračunata za grupu uzoraka, n = ukupan broj uzoraka u grupi uzoraka podijeljenih na uzorce zaštićenih i nezaštićenih morskih područja. Za usporedbu uzoraka u nezaštićenim morskim područjima i uzorcima u zaštićenim morskim područjima, korišten je t-test uparenih uzorka kako bismo izračunali da li postoji statistički značajna razlika između broja čestica te dvije grupe uzoraka. Izračunat je koeficijent korelacijske vrijednosti zamujućenja mora izmjerene mjernim uređajem za turbiditet i broja čestica mikroplastike za sve uzorce, te zasebno za uzorce prikupljene u zaštićenim i nezaštićenim morskim područjima. Prilikom izračuna koeficijenta korelacijske vrijednosti korištena je funkcija CORREL u Excelu, koja je bazirana na formuli:

$$\text{Korelacijski koeficijent} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}}$$

gdje x_i predstavlja izmjerenu vrijednost zamujućenja mora izmjerenu mjernim uređajem za turbiditet u NTU za svaki pojedinačni uzorak $i = 1,2,3,\dots$; \bar{x} predstavlja prosječnu vrijednost zamujućenja mora svih uzorka, ili uzorka posebno za grupu uzorkovanu u zaštićenom morskom području i posebno za grupu uzorkovanu u nezaštićenom morskom području; y_i predstavlja broj identificiranih čestica mikroplastike za svaki pojedinačni uzorak $i = 1,2,3,\dots$; \bar{y} predstavlja prosječnu vrijednost broja identificiranih čestica mikroplastike svih uzorka, ili uzorka posebno za grupu uzorkovanu u zaštićenom morskom području i posebno za grupu uzorkovanu u nezaštićenom morskom području. Dodatno, korišten je xy grafikon u Excelu s linearnim pravcem, jednadžbom pravca i koeficijentom determinacije za provjeru utječe li vrijednost zamujućenja na broj čestica mikroplastike.

REZULTATI

Tablica 1 prikazuje prisustvo i broj identificiranih čestica mikroplastike za svaku lokaciju za ukupno 12 prikupljenih uzoraka.

Tablica 1 Broj i karakteristike čestica mikroplastike prema lokacijama i stupnju zaštite (Kockica (KC), Svjetionik (SV), Peneda (PN), Sv. Jerolimov (SJ))

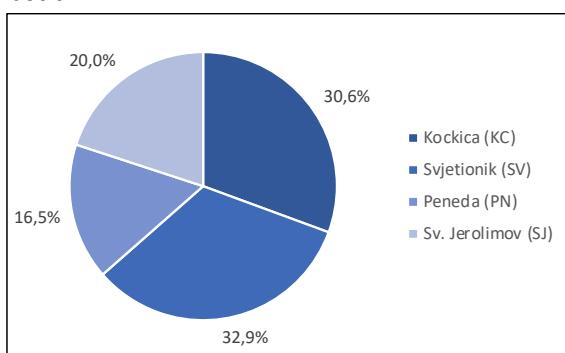
Zaštićeno morsko područje	KC	SV	PN	SJ	Ukupno
	NE	NE	DA	DA	
Broj čestica mikroplastike	Broj čestica/1500 ml				Broj čestica/6000ml
	26	28	14	17	85
Udio u ukupnom broju identificiranih čestica na lokaciji (udi/%)					
Oblik	Filament (FL)	34,6	35,7	42,9	41,2
	Film (FILM)	3,8	0,0	0,0	1,2
	Fragment (FR)	61,5	64,3	57,1	58,8
Veličina	2,0 mm–0,5 mm	7,7	0,0	14,3	0,0
	0,5 mm–0,1 mm	76,9	75,0	71,4	76,5
	<0,1 mm	15,4	25,0	14,3	23,5
Boja	Crna (BK)	3,8	14,3	14,3	11,8
	Plava (BE)	26,9	17,9	7,1	41,2
	Smeđa (BN)	0,0	0,0	0,0	5,9
	Prozirna (C)	19,2	10,7	21,4	11,8
	Zelena (GN)	0,0	10,7	0,0	0,0
	Siva (GY)	19,2	32,1	35,7	11,8
	Roza (P)	3,8	0,0	0,0	0,0
	Crvena (R)	11,5	3,6	0,0	5,9
	Bijela (W)	15,4	10,7	21,4	11,8

Uz broj čestica prikazana su ostala zapažanja koja se odnose na oblik (fragment, filament, film), boje čestica i veličinsku kvalifikaciju čestica prema kategorijama (2000–500 µm, 500–100 µm, <100 µm).

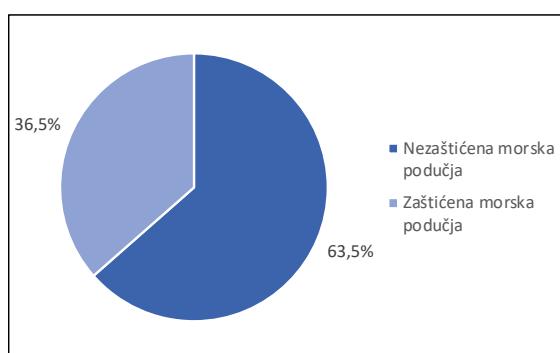


Kategorije su postavljene sukladno preporukama (Hanke i sur., 2013; Sutti i sur., 2021), a iz prikaza rezultata izostavljene su one kategorije gdje nije uočena niti jedna pojedinačna vrijednost.

Na sve četiri lokacije, ukupno identificiran broj čestica mikroplastike iznosi 85. Čestice mikroplastike po broju najviše su zastupljene na lokaciji Svjetionik (SJ) sa 32,9 % od ukupnog broja, potom Kockici (KC) sa 30,6 % od ukupnog broja. Zajedno te dvije lokacije koje se nalaze u nezaštićenom morskom području imaju 63,5 % od ukupnog broja identificiranih čestica mikroplastike. S druge strane, najmanja zastupljenost čestica mikroplastike uočena je na Penedi (PN) sa svega 16,5 % čestica od ukupnog broja, te na Sv. Jerolimovu (SJ) sa 20,0 % čestica od ukupnog broja. Zajedno se te dvije lokacije nalaze u zaštićenom morskom području te imaju 36,5% od ukupnog broja identificiranih čestica mikroplastike. Slike 4 i 5 prikazuju zastupljenost čestica mikroplastike kao udio u ukupnom broju čestica prema lokaciji i zaštiti.

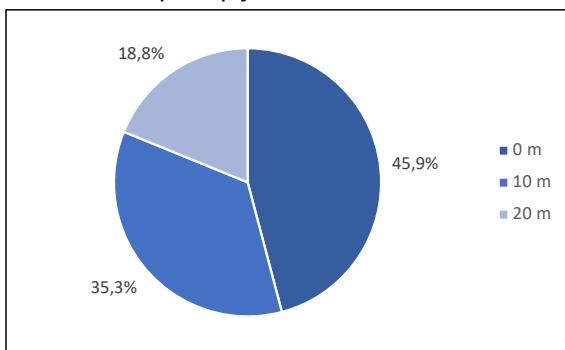


Slika 4 Zastupljenost čestica mikroplastike na lokacijama uzorkovanja

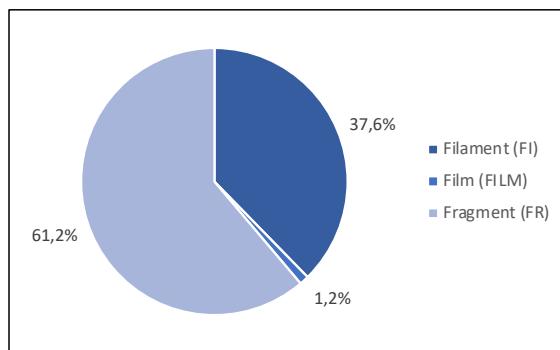


Slika 5 Zastupljenost čestica mikroplastike u zaštićenom i nezaštićenom morskom području

Fragment kao oblik mikroplastike prevladava u identificiranim česticama, s udjelom 61,2 % u ukupnom broju čestica. Filamenti su također prisutni, s udjelom 37,6 % u ukupnom broju čestica, dok je film kao oblik mikroplastike najrjeđi te je pronađeno svega 1,2 % od ukupnog broja čestica. Ostali oblici čestica mikroplastike nisu identificirani. Slika 7 prikazuje zastupljenost čestica mikroplastike prema obliku u svim prikupljenim uzorcima. Po veličini, identificirane su pretežito čestice mikroplastike čija je procijenjena veličina iznosi 500–100 µm, s udjelom 75,3 % u ukupnom broju čestica. Također, identificirane su i čestice manje od 100 µm, s udjelom 20,0 % u ukupnom broju čestica. Identificiran je manji broj čestica veličine 2000–500 µm, s udjelom 4,7 % u ukupnom broju čestica. Ostale veličine čestica mikroplastike nisu identificirane. Slika 8 prikazuje zastupljenost čestica mikroplastike prema veličini u svim prikupljenim uzorcima.



Slika 6 Zastupljenost čestica mikroplastike na dubinama uzorkovanja



Slika 7 Zastupljenost čestica mikroplastike prema obliku

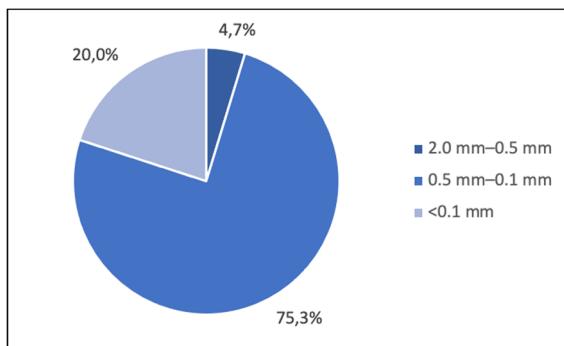
Prema boji, identificirane su razne boje čestica mikroplastike, a najviše su zastupljene siva i plava, s udjelima od 24,7 % i 23,5 % u ukupnom broju čestica. U kategoriji plava, primijećena je i plavo-



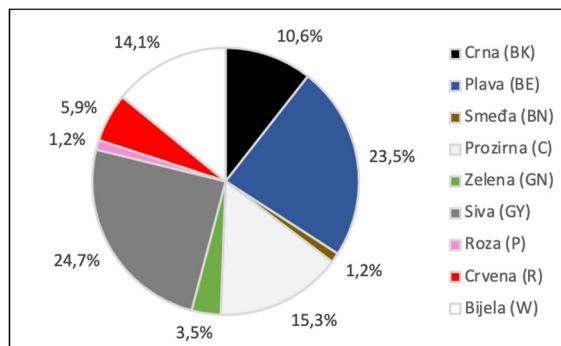
Prisutnost mikroplastike u zaštićenom i nezaštićenom akvatoriju zapadne obale Istre

Mentor:
Marceljak Ilić M.

Ijubičasta boja, ali su pri kategorizaciji boja korištene kategorije propisane po Hanke i sur. (2013), str. 102, Tablica 1 i Slika 9 prikazuju zastupljenost čestica mikroplastike prema boji u svim uzorcima.



Slika 8 Zastupljenost čestica mikroplastike prema veličini



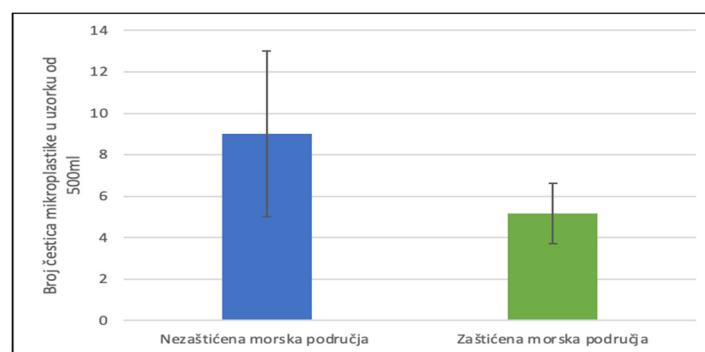
Slika 9 Zastupljenost čestica mikroplastike prema boji

U Tablici 2 prikazani su ukupni brojevi identificiranih čestica mikroplastike na zaštićenim i nezaštićenim morskim područjima, te ukupno na svim istraženim lokacijama, s udjelima prema obliku, veličini i boji.

Tablica 2 Identificirane čestice mikroplastike u zaštićenim i nezaštićenim morskim područjima, te ukupno na svim lokacijama, s udjelima prema obliku, veličini i boji.

	Nezaštićena morska područja		Zaštićena morska područja		Ukupno svi uzorci na svim lokacijama	
	broj čestica/3000 ml	Udeo / %	broj čestica/3000 ml	Udeo / %	broj čestica/6000 ml	Udeo / %
Čestice mikroplastike	54	100,0	31	100,0	85	100,0
Filament (Fl)	19	35,2	13	41,9	32	37,6
Film (FILM)	1	1,9	0	0,0	1	1,2
Fragment (FR)	34	63,0	18	58,1	52	61,2
2.0 mm–0.5 mm	2	3,7	2	6,5	4	4,7
0.5 mm–0.1 mm	41	75,9	23	74,2	64	75,3
<0.1 mm	11	20,4	6	19,4	17	20,0
Crna (BK)	5	9,3	4	12,9	9	10,6
Plava (BE)	12	22,2	8	25,8	20	23,5
Smeđa (BN)	0	0,0	1	3,2	1	1,2
Prozirna (C)	8	14,8	5	16,1	13	15,3
Zelena (GN)	3	5,6	0	0,0	3	3,5
Siva (GY)	14	25,9	7	22,6	21	24,7
Roza (P)	1	1,9	0	0,0	1	1,2
Crvena (R)	4	7,4	1	3,2	5	5,9
Bijela (W)	7	13,0	5	16,1	12	14,1

Slika 10 prikazuje prosječne vrijednosti i standardnu devijaciju za broj identificiranih čestica u uzorcima podijeljenima prema stupnju zaštite na zaštićena i nezaštićena morska područja.



Slika 10 Prosječne vrijednosti broja čestica i pripadajućih standardnih devijacija uzoraka iz nezaštićenih i zaštićenih morskih područja

Iz slike 10 možemo zaključiti da je prosječna vrijednost broja i standardne devijacije identificiranih čestica mikroplastike u uzorcima od 500 ml značajno veća u grupi uzoraka prikupljenih u nezaštićenom



morskom području u odnosu na zaštićeno morsko područje. Prosječna vrijednost identificiranih čestica mikroplastike za nezaštićena morska područja iznosi 9,0 čestica, a za zaštićena morska područja 5,2 čestica. Standardna devijacija iznosi 4,0 za nezaštićena morska područja, a za zaštićena morska područja 1,5. Stoga osim veće prosječne vrijednost, nezaštićena morska područja imaju veću varijabilnost u broju identificiranih čestica mikroplastike. Korištenjem statističke analize podataka u Excelu, izrađen je t-test uparenih uzorka podataka između svih prikupljenih uzoraka u nezaštićenim morskim područjima i uzorcima u zaštićenim morskim područjima izračunata je p-vrijednost koja iznosi 0,009 (*one-tailed*) odnosno 0,0181 (*two-tailed*). Dobivene p-vrijednosti u oba slučaja ukazuju da je broj čestica mikroplastike statistički značajno veći u nezaštićenom morskom području u odnosu na zaštićeno morsko područje. U tablici 3 prikazana je uz oznake lokacije vrijednost zamućenja mora mjerena mjernim uređajem za turbiditet u jedinicama NTU (skraćenica od eng. *Nephelometric Turbidity Unit*), a veće vrijednost prikazuju veći stupanj zamućenja. Usporedno u istoj tablici prikazan je broj čestica mikroplastike.

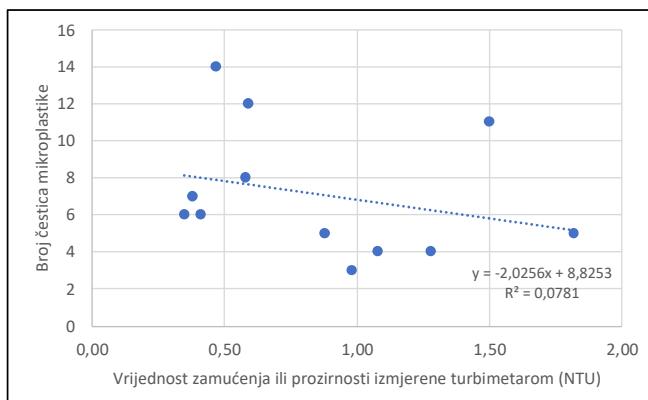
Tablica 3 Vrijednosti zamućenja mora izmjerene mjernim uređajem za turbiditet i broj čestica mikroplastike prema lokaciji i dubini (Kockica (KC), Svjetionik (SV), Peneda (PN), Sv. Jerolimov (SJ))

Zaštićeno morsko područje	Oznaka uzorka, lokacije i dubine	Turbimetar (NTU)	Broj čestica mikroplastike
NE	KC-0 m	0,47	14
NE	KC-10 m	0,58	8
NE	KC-20 m	1,28	4
NE	SV-0 m	0,59	12
NE	SV-10 m	1,50	11
NE	SV-20 m	1,82	5
DA	PN-0 m	0,35	6
DA	PN-10 m	0,88	5
DA	PN-20 m	0,98	3
DA	SJ-0 m	0,38	7
DA	SJ-10 m	0,41	6
DA	SJ-20 m	1,08	4

Izračunata je korelacija između numeričkih vrijednosti zamućenja mora (NTU) i broja čestica, te iznosi kako slijedi:

- ➊ Korelacijski koeficijent (zamućenje - broj čestica mikroplastike) = -0,2794 za sve uzorke;
- ➋ Korelacijski koeficijent (zamućenje – broj čestica mikroplastike) = -0,8918 za uzorke uzrokovane u zaštićenom morskom području;
- ➌ Korelacijski koeficijent (zamućenje - broj čestica mikroplastike) = -0,6278 za uzorke uzrokovane u nezaštićenom morskom području.

Korelacijski koeficijent izračunat za sve uzorke od -0,2794 ukazuje na to da postoji slaba negativna povezanost numeričkih vrijednosti zamućenja mora (NTU) i broja čestica mikroplastike dviju varijabli. No značajno veća negativna povezanost pronađena je na uzorcima samo nezaštićenog morskog područja i samo zaštićenog morskog područja (slijedom -0,6278 i -0,8918). To znači da ako odvojeno promatramo uzorke po stupnju zaštite, da su zamućenje mora i broj čestica mikroplastike značajno negativno povezane. Slika 11 prikazuje analizu za ukupan broj svih uzoraka, neovisno o stupnju zaštite.



Slika 11 Ovisnost broja čestica mikroplastike (y) o vrijednosti zamućenja ili prozirnosti mora izmjereno mjernim uređajem za turbiditet (NTU) (x), svi uzorci neovisno o stupnju zaštite

Analizirajući sve uzorce, ustanovili smo negativnu povezanost između tih varijabli, no s relativno niskim korelacijskim koeficijentom (R^2) kojim smo uspjeli objasniti svega 7,81 % ukupne varijacije linearnom ovisnošću broja čestica mikroplastike sa stupnjem zamućenja. Nasuprot tome, odvajanjem uzorka po stupnju zaštite ustanovili smo snažniju negativnu povezanost između utjecaja stupnja zamućenja na broj čestica mikroplastike. Korelacijski koeficijent (R^2) iznosi 0,7952 za zaštićena morska područja i 0,3942 za nezaštićena morska područja, što znači da se čak 79,52 % odnosno 39,42 % ukupne varijacije može objasniti linearnom ovisnošću broja čestica mikroplastike sa stupnjem zamućenja. U tablici 4 prikazana je temperatura mora, te zapažanja vezana uz prisutnost i intenzitet cvjetanja algi. Izmjerene temperature mora uspoređene su s prosječnim temperaturama mora. Uočena je intenzivna pojавa cvjetanja algi pri morskom dnu, prvenstveno na lokaciji Kockica (KC), ali i Svjetionik (SV). Na tim lokacijama izmjerena temperatura mora odstupa od prosječne za 2,2 °C što je najveće odstupanje od prosječne temperature. Na nezaštićenim morskim područjima lokacija Kockica (KC) i Svjetionik (SV) prikupljeni su uzorci alga na dubini od 20 m gdje su uočeni, u blizini morskog dna. Identificirano je da se radi o cvjetanju alge *Acinetospora crinita*, te su pronađeni mrtvi komadići veličine 3-5 cm alge *Cystoseira compressa* koja je inače smeđe boje, ali prikupljeni uzorci bili su crne boje. Slika 14 prikazuje algu *Acinetospora crinita*, a slika 15 prikazuje algu *Cystoseira compressa*. Cvjetanje algi bilo je značajno manje prisutno na lokacijama zaštićenog morskog područja, Peneda (PN) i Sv. Jerolimov (SJ), te je zamijećeno u značajno manjoj mjeri i intenzitetu pri dubinama od 20 m pri morskom dnu. More je bilo izrazito toplo za doba godine kada je provedeno istraživanje (lipanj 2021.), a osobito povišene temperature izmjerene su pri dubinama od 20 m.



Slika 12 Alga *Acinetospora crinita* „u cvatu“ proizvodi sluzavi agregat, manji uzorak, česte su cijele podvodne livade



Slika 13 Uzorak alge *Cystoseira compressa* koji je plutao na dubini 20 m, tamno-smeđe gotovo crne boje



Tablica 4 Temperatura (temp) mora i intenzitet cvjetanja algi (Kockica (KC), Svjetionik (SV), Peneda (PN), Sv. Jerolimov (SJ))

Oznaka	Zaštićeno morsko područje	Temp (°C)	Prosječna temp (°C)	Odstupanje od prosječne temp (°C)	Procjena intenzitata cvjetanja algi (0-nema, 5-max)	Komentari
KC-0m	NE	24	22,4	1,6	0	Nema vidljivog cvjetanja algi.
KC-10m	NE	19	17,6	1,4	2	Manje vidljivo cvjetanje algi.
KC-20m	NE	17	14,8	2,2	5	Konzistentno sa pojavom cvjetanja mora koja se može vidjeti na ovoj dubini. Primjećuju se bijele niti algi i druge nakupine
SV-0m	NE	24	22,4	1,6	0	Nema vidljivog cvjetanja algi.
SV-10m	NE	19	17,6	1,4	3	Prilično vidljivo cvjetanje algi.
SV-20m	NE	17	14,8	2,2	5	Intenzivno cvjetanje algi na ovoj dubini, vidljive bijele niti i druge nakupine.
PN-0m	DA	24	22,4	1,6	0	Nema vidljivog cvjetanja algi.
PN-10m	DA	18	17,6	0,4	0	
PN-20m	DA	16	14,8	1,2	2	Značajno manje cvjetanje algi u odnosu na lokacije Kockica i Svjetionik.
SJ-0m	DA	24	22,4	1,6	0	Nema vidljivog cvjetanja algi.
SJ-10m	DA	18	17,6	0,4	0	
SJ-20m	DA	16	14,8	1,2	2	Značajno manje cvjetanje algi u odnosu na lokacije Kockica i Svjetionik.

Naposljetku, identificirana je biocenoza dna na dubinama od 20 m s kojih su uzeti uzorci. Na lokacijama Kockica (KC) i. Svjetionik (SV) radi se o biocenozi obalnih detritusnih dna (NKS G.4.2.2.) s prelaskom na koralgensku biocenuzu (NKS G.4.3.1.), dok se na lokacijama Peneda (PN) i Sv. Jerolimov (SJ) radilo o biocenozi infralitoralnih alga (NKS G.3.6.1.).

RASPRAVA

Na svim lokacijama i dubinama uzrokovanja pronađene su čestice mikroplastike. No broj čestica mikroplastike bila je statistički značajno veći u nezaštićenim morskim područjima u odnosu na zaštićena morska područja. Čini se da stupanj zaštite morskog područja može doprinijeti zaštiti mora od onečišćenja mikroplastikom. No bez opsežnijeg istraživanja bilo bi ishitreno izvoditi zaključke da zaštićeno morsko područje pruža učinkovitu zaštitu koja umanjuje prisustvo mikroplastike. Naime, iz slike 1 vidljivo je da su nezaštićena morska područja, Kockica (KC) i Svjetionik (SV) u samoj blizini Pule, te stoga na izvoru mogućeg onečišćenja i djelovanja čovjeka. Stoga na tim lokacijama pronalazimo najveći udio od ukupno 63,5 % čestica u ukupnom broju čestica. S druge strane, lokacija Peneda (PN), koja se nalazi u zaštićenom morskom području, najviše je okrenuta prema otvorenom moru, te ima udio od samo 16,5 % od ukupnog broja identificiranih čestica. Dodatni razlog zašto bi bilo ishitreno izvoditi zaključke o važnosti zaštićenog morskog područja kao učinkovitoj zaštiti od onečišćenja mikroplastikom su rezultati prethodnih istraživanja. Renzi i sur. (2019) pronalaze usporedive količine mikroplastike na zaštićenim i nezaštićenim morskim područjima. Blašković i sur. (2017) tvrde da zaštićena morska područja ne pružaju efikasnu zaštitu od onečišćenja mikroplastikom, iako potvrđuju rezultat ovog istraživanja kako je količina mikroplastike najmanja na lokacijama zaštićenog morskog područja prema otvorenom moru.

Osim razlike u broju čestica na lokacijama zaštićenog i nezaštićenog morskog područja, ovim istraživanjem nisu pronađene značajne razlike u obliku, veličini i boji uzoraka između pojedinih lokacija, te između zaštićenog i nezaštićenog morskog područja. U oba područja, kao oblik čestice prevladaju fragmenti (58,1 % i 63,0 %); manje čestice (500–100 µm) (74,2 % i 75,9 %); te plava (25,8 % i 22,2 %) i siva (22,6 % i 25,9 %) boja. Rezultati ovog istraživanja samo se djelomično poklapaju s ostalim



sličnim istraživanjima. Tako primjerice u istraživanju koje su proveli Blašković i sur. (2017), prevladavaju filamenti (90,7 % svih čestica) kao oblik čestica mikroplastike, čestice manje od 100 µm (88,79 %) te su prevladavajuće boje prozirna (25,13 %) i bijela (22,25 %).

Suprotno očekivanjima i rezultatima nekih prethodnih istraživanja, većina identificiranih čestica mikroplastike nalazila se na površini mora (45,9 %), nasuprot svega 18,8 % od ukupnog broja čestica na dnu pri dubini od 20 m. Stoga možemo zaključiti da većina identificiranih čestica mikroplastike ima manju gustoću od morske vode, te da je prošlo relativno kraće razdoblje od ulaska čestice mikroplastike u more. Naime, s vremenom se na česticama mikroplastike stvara film od mikroorganizama, pa iste potonu, a Liubartseva i sur. (2016a) su utvrdili da se radi o procesu koji traje u prosjeku 43,5 dana. Liubartseva i sur. (2016a) napravili su vrlo detaljna mjerjenja o kretanju plastičnog otpada u Jadranu. Proveli su mjerjenje u razdoblju od 2009. do 2015. iz kojih je vidljivo da je Pula jedan od najvećih onečišćivača u Jadranu s procijenjenom količinom plastičnog otpada od 24,9 kg/km² na dan, značajno većom od ostalih priobalnih hrvatskih gradova i usporedivom s najvećim onečišćivačima plastičnim otpadom u priobalu Italije.

Liubartseva i sur. (2016b) napravili su i kratku video animaciju plutajućih nanosa plastičnog otpada tijekom 2013. – 2015. s prikazom prostorno-vremenske varijabilnosti koncentracije. U tom prikazu vidljiv je akvatorij zapadne obale Istre u kojem je provedeno ovo istraživanje, te se ističe kao jedno od mikroplastikom onečišćenih dijelova hrvatske obale Jadranskog mora. Osim što je grad Pula veliki onečišćivač mora, čestice mikroplastike mogu na lokacije ovog istraživanja doći nošene morskim strujama od blizine grada Rijeke kao velike luke, te rijeka Rječine i Raše, kao i velikih brodova koji plove do luke Rijeka.

Rezultati korištenja obje statističke metode pokazuju da postoji značajan negativan utjecaj izmjerенog zamućenja mora na broj čestica mikroplastike. Preporuka bi bila ponoviti uzrokovanje na većem broju uzoraka te pronaći alternativna objašnjenja o negativnom utjecaju zamućenosti mora na broj čestica mikroplastike. Jedno od mogućih objašnjenja je da je zamućenje mora najveće na dnu gdje je broj čestica mikroplastike najmanja. Stoga mnogi parametri mogu utjecati na dobivene rezultate koje je potrebno dodatno detaljno istražiti.

Suprotno očekivanjima, rezultati istraživanja ne potvrđuju da pojava cvjetanja algi doprinosi većem broju čestica mikroplastike. Tijekom istraživanja uočena je pojava bentoskog cvjetanja alge *Acinetospora crinita* koja stvara voluminozne sluzave nakupine s povišenim koncentracijama amonijaka, a to ubija drugu algu *Cystoseira compressa* čiji su nekrofilni (mrtvi) komadići crne boje pronađeni na lokacijama Kockica (KC) i Svjetionik (SV) pri dubini od 20 m i pri morskom dnu. Iveša i sur. (2021) detaljno opisuju uočenu pojavu. Ovim istraživanjem ne može se povezati cvjetanje algi s brojem čestica mikroplastike, ali ukazuje na potrebu dodatnog istraživanja. Izmjerene su temperature mora povećane u usporedi s prosječnim vrijednostima koje su utvrdili Krstulović i sur., 2012. te Grbec i Stupić, 2020, naročito na dubini od 20 m koje su na nezaštićenim morskim područjima više za 2,2 °C. One su vjerojatno posljedica klimatskih promjena koje doprinose i povećanoj učestalosti cvjetanja algi upravo u području istraživanja (Iveša i sur., 2021).

Naposljetu, ovim istraživanjem nije pronađena poveznica između čestica mikroplastike i biocenoze. Razlog tome je zasigurno mali broj uzoraka koji su direktno prikupljeni iz stupca mora pri morskom dnu na dubini od 20 metara. Renzi i sur. (2018) na značajno većem broju uzoraka prikupljenim iz Tršćanskog zaljeva također ne nalaze poveznicu između biocenoze morskog dna i broja čestica mikroplastike.



ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja prisutnosti čestica mikroplastike u zaštićenom i nezaštićenom akvatoriju zapadne obale Istre možemo zaključiti sljedeće:

- ➊ Mikroplastika je prisutna na svim lokacijama i dubinama.
- ➋ Broj čestica mikroplastike je veći u nezaštićenom morskom području, bliže obali, a najmanja u zaštićenom morskom području izloženom otvorenom moru.
- ➌ Broj čestica mikroplastike u uzorkovanim područjima veća je na površini mora nego na dnu.
- ➍ Veći broj čestica mikroplastike povezan je sa manjim stupnjem zamućenja mora, a taj negativni utjecaj zamućenja mora na broj čestica mikroplastike još je više izražen ako se analiziraju zasebno uzorci prikupljeni u zaštićenom morskom području, te zasebno uzorci prikupljeni u nezaštićenom morskom području.
- ➎ Pojava cvjetanja algi uočena je isključivo pri dubinama od 20 m, značajno većeg intenziteta u nezaštićenom morskom području, te se ne može povezati s većom brojem čestica mikroplastike, ali može s odstupanjima od prosječnih temperatura za 2,2°C.

LITERATURA

- Arthur C., Baker J., Bamford H. 2009. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects and Fate of Microplastic Marine Debris. Sept 9-11, 2008. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-30. <https://marinedebris.noaa.gov/proceedings-international-research-workshop-microplastic-marine-debris>, pristupljeno 30.1.2022.
- Bakran-Petricoli T. 2011. Priručnik za određivanje morskih staništa u Hrvatskoj prema Direktivi o staništima EU, Državni zavod za zaštitu prirode Zagreb, http://www.haop.hr/sites/default/files/uploads/publications/2018-01/Bakran_Petricoli%20-%20Prirucnik%20za%20morska%20stanista.pdf, pristupljeno 30.1.2022.
- Barišić V., Rusković A. 2016. Mikroplastika u Ribama. Bioznalac 2: 148-155, <http://www.hbd-sbc.hr/wordpress/wp-content/uploads/2015/09/Bioznalac-br.2-2016.pdf>, pristupljeno 30.1.2022.
- Bioknowledgyl. 4.1.S3 Testing for association between two species using the chi-squared test with data obtained by quadrat sampling, <https://www.bioknowledgyl.info/41-species-communities-and-ecosystems.html>, pristupljeno 27.2.2022.
- Blašković A., Fastelli P., Čižmek H., Guerranti C., Renzi M. 2017. Plastic litter in sediments from the Croatian marine protected area of the natural park of Telašćica bay (Adriatic Sea). Marine Pollution Bulletin, 114(1): 583-586. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.09.018>
- Bule K., Zadro K., Tolić A., Radin E., Miloloža M., Ocelić Bulatović V., Kučić Grgić D. 2020. Mikroplastika u morskom okolišu Jadrana, Kem. Ind. 69 (5-6): 303–310, <https://doi.org/10.15255/KUI.2019.063>
- Feng Z., Zhang T., Shi H., Gao K., Huang W., Xu J., Wang J., Wang R., Li J., Gao G. 2020. Microplastics in bloom-forming macroalgae: Distribution, characteristics and impacts. Journal of Hazardous Materials, 397, 122752. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122752>
- Glavičić Marović L. 2020. Struktura ribiljih zajednica u Hvarskom kanalu. Bioznalac 6: 1-17, <https://www.hbd-sbc.hr/wp-content/uploads/2021/10/Bioznalac-br.6-2020.pdf>, pristupljeno 20.3.2022.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2022. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>
- Guo X., Wang J. 2019. The Chemical Behaviors of Microplastics in Marine Environment: A Review. Marine Pollution Bulletin 142: 1-14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.019>
- Grbec, B., Supić, N. 2020. Baza podataka morskog okoliša, marikulture i ribarstva. Temperatura, salinitet i gustoća morske vode (2019. godina). Godišnji hod temperature u površinskom i pridnenom sloju (usporedba sa višegodišnjim prosjekom (1961.-1990.). <http://baltazar.izor.hr/azopub/bindex>
- Grubišić, A. 2004. Hi-kvadrat test i njegove primjene. Seminarski rad, Fakultet elektrotehnike i računarstva, Zagreb.
- Guo X., Wang J. 2019. The chemical behaviors of microplastics in marine environment: A review, Mar. Pollut. Bull. 142: 1-14, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.019>
- Hanke G., Galgani F., Werner S., Oosterbaan L., Nilsson P., Fleet D., Kinsey S., Thompson R., Palatinus A., Van Franeker J., Vlachogianni T., Scoullos M., Veiga J., Matiddi M., Alcaro L., Maes T., Korpinen S., Budziak A., Leslie H., Gago J., Liebezeit G. 2013. Guidance on Monitoring of Marine Litter in European Seas. EUR 26113. Luxembourg (Luxembourg): Publications Office of the European Union; JRC83985, <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC83985>, pristupljeno 30.1.2022.
- Iveša Lj., Djakovac T., Bilajac A., Gluščić E., Devescovi M. 2021. Increased ammonium levels occurring during benthic algal blooms are potentially toxic to fucalean algae. Botanica Marina 64(4): 267-274, <https://doi.org/10.1515/bot-2021-0033>



- Krstulović, N. i sur. 2012. Početna procjena stanja i opterećenja morskog okoliša hrvatskog dijela Jadrana. Institut za oceaongrafiiju i ribarstvo, Split, rujan.
http://haop.dev.perpetuum.hr/sites/default/files/uploads/dokumenti/03_prirodne/pocetna_procjena_stanja_i_pritisaka_na_morski_okolis_hrvatskog_dijela_jadrana.pdf
- Liubartseva S., Coppini G., Lecci R., Creti S. 2016a. Regional approach to modeling the transport of floating plastic debris in the Adriatic Sea. Marine Pollution Bulletin, 103(1): 115-127. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.12.031>
- Liubartseva S., Coppini G., Lecci R., Creti S. 2016b. A short animation of the floating debris drift over 2013–2015 showing spatial–temporal variability of the concentration of plastic in the Adriatic Sea,
http://plastics.cmcc.it/files/DFG_suppl.mov
- Regional approach to modeling the transport of floating plastic debris in the Adriatic Sea. Marine Pollution Bulletin, 103(1): 115-127. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.12.031>
- Llorca M., Álvarez-Muñoz D., Ábalos M., Rodríguez-Mozaz S., Santos L. H. M. L. M., León V. M., Campillo J. A., Martínez-Gómez C., Abad E., Farré M. 2020. Microplastics in Mediterranean coastal area: toxicity and impact for the environment and human health. Trends in Environmental Analytical Chemistry, 27, e00090.
<https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00090>
- Mistri M., Sfriso A. A., Casoni E., Nicoli M., Vaccaro C., Munari C. 2022. Microplastic accumulation in commercial fish from the Adriatic Sea. Marine Pollution Bulletin, 174, 113279. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113279>
- Pohl F., Eggenhuisen J. T., Kane I. A., Clare M. A. 2020. Transport and Burial of Microplastics in Deep-Marine Sediments by Turbidity Currents. Environmental Science & Technology, 54(7): 4180-4189.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07527>
- Renzi M., Blašković A., Fastelli P., Marcelli M., Guerranti C., Cannas S., Barone L., Massara F. 2018. Is the microplastic selective according to the habitat? Records in amphioxus sands, Märl bed habitats and Cymodocea nodosa habitats. Marine Pollution Bulletin, 130: 179-183. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.03.019>
- Renzi M., Čižmek H., Blašković A. 2019. Marine litter in sediments related to ecological features in impacted sites and marine protected areas (Croatia). Marine Pollution Bulletin 138: 25-29.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.030>
- Schmid C., Cozzarini L., Zambello, E. 2021. A critical review on marine litter in the Adriatic Sea: Focus on plastic pollution. Environmental Pollution, 273, 116430. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116430>
- Sutti A., Robottom S., Sutti S. 2021. MICROPLASTICS-Protocol Proposal. DeakinUni-LabTer-Crea-GLOBE Italia, radna verzija



Utjecaj začinskih biljaka s dalmatinskoga područja na rast kolonija nepatogenoga soja bakterije *Escherichia coli*

Kate Kukuljica, 2. razred

Gimnazija Franje Petrića, Zadar

Mentor: Nela Mandić

SAŽETAK

Dalmatinsko područje obiluje začinskim i aromatičnim biljem čija je ljekovitost od davnina poznata u narodnoj medicini. Iz biljnog materijala (bosiljak, Ocimum basilicum L.; divlji mažuran, Origano vulgare L.; timijan, Thymus vulgaris L.; ružmarin, Rosmarinus officinalis L.) dobiveni su hidrolati kao nusproizvod vodene destilacije i čajevi. Navedene biljke bile su u narodu prisutne u liječenju upala mokraćnoga sustava čiji je najčešći uzročnik bakterija *E. coli*. Cilj je ovog istraživanja ispitivanje antibakterijskog aspekta ljekovitosti biljaka. Moguće antibakterijsko djelovanje hidrolata i čajeva biljaka ispitano je putem semikvalitetne difuzijske metode (antibiograma). Dobiveni rezultati ukazuju da tretmani hidrolatima bosiljka i timijana uzrokuju najveću inhibiciju rasta *E. coli*. Hidrolati aromatičnih biljnih vrsta imaju potencijal za razvoj prirodnih lijekova kao dodatak prehrani uz liječenje antibioticima.

Ključne riječi: narodna medicina; začinsko bilje; *E. coli*; antibiogram

UVOD

Mederanska kuhinja smatra se jednom od najzdravijih kuhinja na svijetu. Smanjena konzumacija crvenog mesa i rafiniranih šećera te povećana konzumacija plodova mora, maslinovog ulja i povrća uzrokuju brojne pogodnosti za ljudski organizam poput smanjene vjerojatnosti razvijanja pretilosti, kardiovaskularnih bolesti, raka i dijabetesa. Ovakva prehrana također ne šteti okolišu zbog usmjerenosti na sezonsko povrće pomoću čega se smanjuje ugljični otisak zajednice (Guasch-Ferré i Willett, 2021). Jedna je od glavnih sastavnica ove kuhinje mnoštvo začinskih biljaka koje se svakodnevno koriste u pripremi jela. Takvo, najčešće samoniklo, začinsko bilje našlo je svoje mjesto i u narodnoj (prirodnoj) medicini zbog svojih ljekovitih svojstava. S obzirom na iznimnu rezistentnost bakterija na današnje sintetičke i polusintetičke antibiotike, mnogi se vraćaju narodnoj medicini te traže alternative ili dopun liječenju antibioticima. Narodna medicina nudi pripravke koji su jeftiniji i dostupniji, a istovremeno ne sadrže štetne tvari (za razliku od nekih sintetičkih antibiotika). Iako dio modernih lijekova već sadrži ekstrakte pojedine biljke, učinkovitost brojnih narodnih pripravaka nije dovoljno istražena. Iz tog razloga, ovaj istraživački projekt usmjeren je na ljekovito bilje koje su naši preci koristili u liječenju upala mokraćnih puteva čiji je najčešći uzročnik bakterija *Escherichia coli*.

Za ovo istraživanje odabrane su biljke bosiljak, divlji mažuran (origano), ružmarin i timijan s obzirom na njihovu zastupljenost u prosječnom domaćinstvu i dostupnost tijekom dijete godine. Biljke mogu biti ljekovite ovisno o vrsti aktivnih tvari u svome sastavu. Aktivne tvari dijelimo na ugljikohidrate, masti, flavonoide, saponine, kumarine, antrakinonske i srčane glikozide, gorke tvari, ljute tvari, tanine, eterična ulja i vitamine (Toplak Galle, 2001). Eterična ulja u svome sastavu sadrže najviše terpena, ugljikovodika sličnih cikloalkanima koji nastaju kao derivati oksidacije izoprena (Metych, 2019). Prema Araújo Silva i sur. (2015), spojevi iz skupine terpena mogu povećati aktivnost antibiotika i smanjiti rezistentnost bakterija u pojedinim slučajevima. Isti spojevi mogu pomoći u uništavanju plazmida bakterije ili mogu inhibirati transport tvari, tj. komunikaciju između plazmida i citoplazme bakterije. Također su prisutni i fenoli, skupina arena s jednom ili više hidroksilnih skupina koje imaju



antibakterijski utjecaj (Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, 2021). U terpene ubrajamo α -pinen i borneol, a u fenole ružmarinsku kiselinu, karvakrol, timol i druge.

Bosiljak (*Ocimum basilicum* L.) je podrijetlom iz Indije te je jednogodišnja biljka koja cvate od lipnja do rujna, ali se u većim supermarketima može pronaći kroz cijelu godinu jer je pogodan za uzgoj u staklenicima. U kulinarstvu se koriste listovi bosiljka kao svježi i suhi začin dok se eterično ulje (cineol, estragol, linalol, pineol, timol,...) koristi za masaže (Sienkiewicz i sur., 2013). Ljekovitost bosiljka u narodu je poznata od davnina, a rabi se za liječenje bolesti živaca, oka, kože, pluća, želuca i crijeva. Navedena obilježja najčešće se liječe čajem od bosiljka koji je siguran za dugotrajno liječenje (Lesinger, 2006).

Divlji mažuran ili mravinac (*Origanum vulgare* L.) trajnica je koja cvate od lipnja do srpnja. U kulinarstvu se sušeni listovi koriste kao začin. Eterično ulje sastoji se od karvakrola, timola, cimola i borneola te se koristi kod upala uzrokovanih bakterijama (Masood i sur., 2007). Narod ga koristi za jačanje imuniteta te protiv bolesti kože, dišnih organa, jetre, želuca, crijeva, mjeđura i mokraćnih puteva. Najviše se pri liječenju koristi čaj divljeg mažurana s naglaskom na umjerenu upotrebu zbog osjetljivosti jetre na ovu biljku (Lesinger, 2006).

Ružmarin (*Rosmarinus officinalis* L.), u antičkome svijetu poznat kao biljka sjećanja, trajnica je koja cvate kroz cijelu kalendarsku godinu. Eterično ulje, koje ima i vanjsku i unutarnju upotrebu, sadrži α -pinen, cineol, borneol te ružmarinsku i oleanolnu kiselinu (Sienkiewicz i sur., 2013). Ružmarin je neizostavan začin dalmatinskih jela u kojima se koriste neodrvenjele grančice. Koristi se pri liječenju visokog i niskog krvnog tlaka, bolesti kože, dišnih puteva, želuca i mokraćnih puteva te djeluje kao antioksidans. Ružmarin ne smiju koristiti trudnice, a u većim količinama izaziva tromost i proljev (Lesinger, 2006).

Timijan (*Thymus vulgaris* L.) je višegodišnja biljka koja cvate od svibnja do srpnja te je poznata još od staroegipatske civilizacije gdje se koristila u procesu mumifikacije zbog svog antiseptičkog djelovanja. Eterično ulje sadrži timol, karvakrol, α -pinen, borneol i oleanolnu kiselinu te se koristi isključivo razrijeđeno. U narodnoj medicini koristio se pri liječenju bolesti krvi, dišnih organa, želuca, crijeva i upala mokraćnih puteva uzrokovanih bakterijama. U uporabi pripravaka od timijana treba biti oprezan jer u prekomernim dozama mogu uzrokovati želučane grčeve, vrtoglavice i grlobolje (Lesinger, 2006).

Brusnica (*Vaccinium vitis-idaea* L.) je zimzelen grm koji naraste do 40 cm visine. Cvate od svibnja do lipnja, a plodovi (bobice) dozrijevaju od kolovoza do listopada. Zrele bobice sadrže šećer, limunsku i jabučnu kiselinu, pektin, karotin i askorbinsku kiselinu. Brojni popularni članci navode čaj od brusnice kao koristan pripravak protiv urinarnih infekcija, zbog čega je u ovom istraživanju sušeni plod ove biljke korišten za usporedbu utjecaja začinskih biljaka, tj. kao kontrola (Plantea, 2021). Prema Toplak Galle (2001), za učinkovito liječenje potrebno je dnevno piti šalicu ili dvije čaja u razdoblju od četiri do pet tjedana.

Osim čaja i sličnih kućnih pripravaka, pri liječenju aromatičnim biljem koristi se eterično ulje koje se iz biljke izdvaja procesom destilacije. Destilacijom se sastojci otopine pročišćavaju ili se razdvajaju sastojci smjese tekućina. Tekućina se najprije zagrijava te sastojci nižeg vrelišta (čiste, aktivne tvari) isparavaju i ponovno se kondenziraju. Proizvodi destilacije biljaka dijele se na uljanu i vodenu komponentu. Uljana komponenta ili eterično ulje iznimno je vrijedno jer biljke sadrže malo ulja u



svome sastavu. Pri destilaciji nastaje mnogo više vodene komponente ili hidrolata koji sadrži manje aktivnih tvari (Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, 2021). Eterična su ulja iznimno skupa te je za značajan volumen ulja potrebna velika masa biljke zbog čega su u ovome projektu korišteni dostupniji pripravci, čaj i hidrolat.

Glavni uzročnici svih upala ili bolesti kod ljudi su bakterije, prokariotski organizmi čija jezgra nije ovojnicom odvojena od ostatka stanice. Umjesto jezgre, bakterije imaju nukleoid (bakterijski kromosom) uronjen u citoplazmu. Uz nukleoid, bakterije sadrže i brojne plazmide, molekule DNA koje postoje i djeluju neovisno o nukleoidu. Pojedini geni na plazmidima su podložni promjeni te donose bakteriji određena obilježja koja im pomažu preživjeti u promjenjivome biotopu. Bakterijsku stanicu obavijaju stanična membrana i stanična stijenka, a neke vrste imaju i kapsulu koja im omogućuje život u nepovoljnim uvjetima. Razmnožavaju se iznimno brzo procesom diobe ako u okolini imaju dovoljno hranjivih tvari. Razlikujemo ih po obliku koji može biti okrugli (kokci), štapićasti (bacili) ili spiralni (Kalenić i sur., 2013). Bakterije koje su prisutne u našem organizmu kao simbionti pripadaju enterobakterijama ili porodici *Enterobacteriaceae*, gram-negativnim štapićastim bakterijama. Raširene su u prirodi te su fakultativni anaerobi, tj. mogu živjeti u aerobnim i anaerobnim uvjetima (Kalenić i sur., 2013).

Vrsta *E. coli* je najznačajnija vrsta roda *Escherichia* te je dio crijevne mikroflore gdje fermentira laktuzu. To je gram-negativna štapićasta (ili bacilarna) bakterija duljine od 2 do 6 µm. *E. coli* može uzorokovati gastroenteritis ili infekcije mokraćnih puteva, a zaraze tom bakterijom najčešće nastaju zbog loše osobne higijene ili neispravne termičke obrade hrane. Kao i ostali pripadnici enterobakterija, *E. coli* iznimno brzo razvija rezistentnost na današnje antibiotike zbog čega liječenje infekcija pojedinim sojevima može trajati godinama (Kalenić i sur., 2013).

Za potrebe kvalitativne i kvantitativne analize, bakterije se u laboratorijima uzgajaju na hranjivim podlogama, medijima za uzgoj i determinaciju mikroorganizama i makroorganizama. To su smjese hranjivih tvari i drugih kemikalija koje podržavaju rast i stvaranje, u ovome slučaju, bakterijskih kolonija. Prema konzistenciji dijele se na krute, polutekuće i tekuće. Po namjeni razlikuju se podloge opće namjene, selektivne podloge (za uzgoj i determinaciju pojedine vrste) i diferencijalne podloge (za uzgoj i determinaciju više srodnih vrsta). Uz hranjive tvari, diferencijalne i selektivne podloge sadrže i druge kemikalije koje doprinose stvaranju posebnih uvjeta pogodnih za razvoj pojedinih bakterija. Primjerice, podloga za sulfat-reducirajuće bakterije sadrži spojeve bogate sulfatima koje bakterije koriste kao izvor hranjivih tvari (Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, 2021).

Slijedom navedenoga, cilj je projekta istražiti imaju li navedene vrste začinskih biljaka antibakterijsko djelovanje na bakteriju *E. coli* te istražiti opravданost primjene hidrolata tih biljaka u borbi protiv infekcije bakterijom *E. coli*. Pretpostavlja se da će hidrolati pojedine vrste začinskih biljaka zbog veće koncentracije aktivnih tvari u svome sastavu imati jači učinak nego čaj iste vrste. Pretpostavlja se da će ružmarin pokazati jača antibakterijska svojstva koja će se prikazati većim zonama inhibicije, zbog velikog udjela terpena i fenola u svome sastavu. Prema Nakagawa i sur. (2020), ružmarin sadrži visoki udio karnozinske kiseline, karnozola i ružmarinske kiseline zbog čega ekstrakti te biljke uspješno inhibiraju soj *Staphylococcus aureus* L. Analogno tome, ova biljka bi mogla inhibirati soj *E. coli* zbog toga što su obje bakterijske vrste patogeni u ljudskome organizmu. Bosiljak u svome sastavu sadrži najveći postotak estragola (Sienkiewicz i sur., 2013) dok origano u svome sastavu sadrži najveće postotke ružmarinske kiseline i viteksina (Radušienė i sur., 2008). Iako bosiljak i origano sadrže aktivne

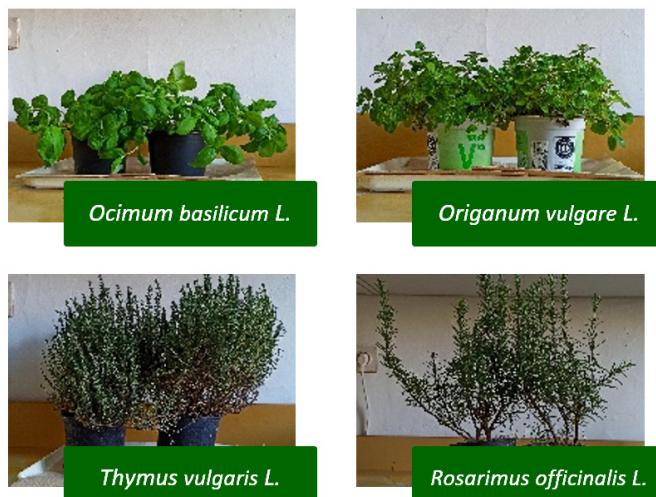


tvari za koje su dokazana antibakterijska svojstva, u usporedbi s timijanom koji sadrži više vrsta i veći postotak fenola i terpena (klorogenička, cinaminska i ružmarinska kiselina te luteolin i timol) (Bistgani i sur., 2019) prepostavljamo kako će hidrolati i čajevi bosiljka te origana uzrokovati manje zone inhibicije u usporedbi s ostalim pripravcima.

METODE

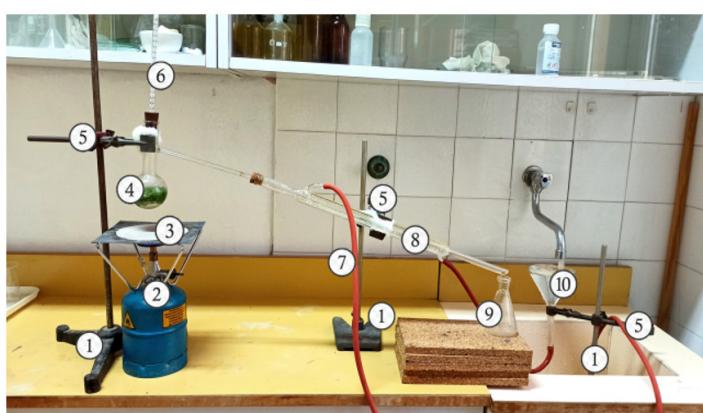
Opisane metode provedene su u izoliranim uvjetima u školskom kabinetu za biologiju i kemiju te u prostorijama Zavoda za javno zdravstvo Zadar (zbog uporabe opreme koju škola ne posjeduje) sa zaštitnom opremom (rukavicama i kutom) te u prisustvu mentora. Istraživački projekt proveden je u razdoblju od listopada 2021. do siječnja 2022. godine.

Sadnice biljaka bosiljka, divljeg mažurana, ružmarina i timijana (slika 1) kupljene su u rasadniku te čuvane u školi. Od svake biljke pripravljen je čaj te je objavljena destilacija 5 g listova biljke u 50 mL destilirane vode ($c = 100 \text{ mg/mL}$). Nakon provedenog istraživanja, trajnice (divlji mažuran, ružmarin i timjan) su posađene u vrt.



Slika 1. Uzorci biljnog materijala korišteni u istraživanju (bosiljak, *Ocimum basilicum* L.; divlji mažuran, *Origanum vulgare* L.; timjan, *Thymus vulgaris* L.; ružmarin, *Rosmarinus officinalis* L.).

Destilacija je provedena pomoću aparature (slika 2) te je trajala oko sat vremena, tj. do željene količine hidrolata (oko 25 – 30 mL).



Oznaka	Ime
1.	metalni stalak
2.	plamenik
3.	Ceran ploča
4.	tirkvica za destilaciju
5.	stezaljka (mufa)
6.	živin termometar
7.	gumena cijev
8.	Liebigovo hladilo
9.	Erlenmeyerova tirkvica
10.	stakleni lijevak

Slika 2. Aparatura za destilaciju



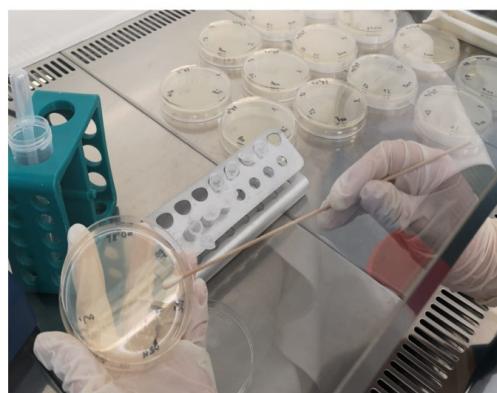
S obzirom da pri destilaciji nije došlo do odvajanja kapljica ulja biljke, zaključeno je kako je uzrokovana masa biljke nedostatna da bi došlo do odvajanja ulja od vodene komponente. Ohlađeni uzorci premješteni su u plastične sterilne posude te su skladištene u hladnjaku pri temperaturi od 6 °C.

Čista kolonija nepatogenoga soja bakterije *E. coli* (ime soja: 25922 ATCC) nabavljenja je na odjelu biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Splitu. Bakterijske kolonije razrijeđene su i nasaćene na Mueller-Hinton agar (MHA), hranjivu podlogu opće namjene. Ovaj agar najčešće se koristi za izradz antibiograma, a pripravljen je po receptu u tablici 1. Navedene količine sastojaka otopljene su u 1 L destilirane vode i autoklavirane pri 115 °C oko 15 minuta. Vrijednost pH je pomoću digitalnog pH-metra (HI-98103 Pocket Checker pH Tester, Hanna Instruments) podešena do pH = 7,4 ± 0,2 (Duraković i Redžepović, 2002).

Tablica 1 Sastav Mueller-Hinton agara

Sastojak	Količina (g/L)
infuzija mesa	2
hidrolizat kiselina	17,5
škrob	1,5
agar	13

Prema Palijanu (2013), iz čiste kulture bakterija uzeta je jedna kolonija te je otopljena u 1 mL sterilne 0,85 % -tne otopine natrijeva klorida (NaCl) u ependorfovoj epruveti. Sterilni štapić za uši umočen je u ependorfovu epruvetu i nasaćen u svim smjerovima po hranjivoj podlozi na Petrijevoj zdjelici (slika 3). Ukupno je pripremljeno po tri ponavljanja za hidrolate i čajeve svake pojedine biljke (bosiljak, divlji mažuran, ružmarin i timijan) uz kontrole: destiliranu vodu te hidrolat i čaj brusnice. Pripravci brusnice označeni su kao pozitivna kontrola, tj. od istih se očekuje antibakterijski utjecaj dok je destilirana voda označena kao negativna kontrola, kontrola koja ne uzrokuje zone inhibicije.



Slika 3. Nasađivanje kolonije bakterija na hranjivu podlogu

Pri testiranju osjetljivosti bakterija na antibiotike, najčešća metoda je semikvalitativna difuzijska metoda. Provodi se tako da se na krutu hranjivu podlogu nasadi bakterijska kolonija te se odmah na podlogu nježno postave papirnati diskovi natopljeni pripravkom potencijalnog antibakterijskog djelovanja (slika 4). Nasađene Petrijeve zdjelice stavljenje su u inkubator Zavoda na temperaturu između 36,5 i 37 °C (prosječnu temperaturu ljudskog tijela) te ostavljene tijekom 24 sata. Osjetljivost bakterije na pripravak mjeri se zonom inhibicije, tj. područjem kružnoga oblika oko diska u kojem se više ne razvijaju bakterije. Pripravak na koji su bakterije rezistentne neće uzrokovati vidljivu zonu



inhibicije (Kalenić i sur., 2013). Nakon 24 sata ravnalom ili pomičnom mjerkom mjeri se zona inhibicije oko diska (Napomena: ako zona nije vidljiva, rezultat je 0).



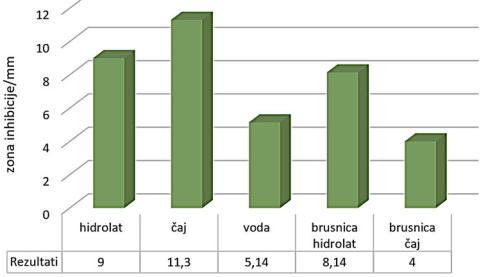
Slika 4. Postavljanje papirnatoga diska s pripravkom potencijalnog antibakterijskog djelovanja

S obzirom na nedovoljan broj papirnatih diskova iste veličine, izmjerene vrijednosti statistički su podešene, tj. standardizirane na veličinu malih diskova. Izračunat je medijan rezultata velikih (promjera 12 mm) i malih diskova (promjera 6 mm) kako bi se dobio „potencijal“ koliko pojedini disk može upiti otopine i koliku zonu inhibicije može stvoriti. Razlika između medijana oduzeta je od svakog mjerjenja s velikim papirnatim diskom te su dobivene vrijednosti u sličnome intervalu. Nakon završenoga istraživanja, Petrijeve zdjelice s bakterijskim kolonijama predane su djelatnici Zavoda za javno zdravstvo kako bi bile zbrinute prema naputku o postupanju s otpadom u zdravstvenim ustanovama.

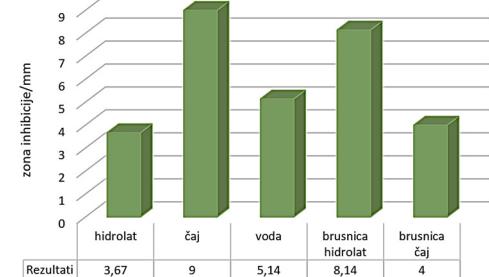
REZULTATI

Analizom rezultata mjerjenja zona inhibicije (slike 5, 6, 7, 8, 9, 10) vidljivo je kako najveće zone inhibicije uzrokuju tretmani hidrolatom bosiljka (9 mm), čajem ružmarina (9 mm) i čajem bosiljka (11,3 mm). Također je vidljivo kako kod bosiljka, timijana i brusnice hidrolati pojedine vrste uzrokuju veću zonu inhibicije od čaja iste vrste. Ovime je potvrđena početna hipoteza kako će tretmani hidrolatima dati veće zone inhibicije od čaja iste biljne vrste. Opaženo je i kako i hidrolat i čaj bosiljka imaju značajne zone inhibicije te kako pripravci bosiljka uzrokuju veće zone inhibicije od hidrolata brusnice.

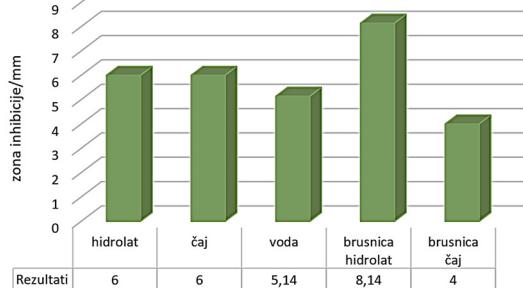
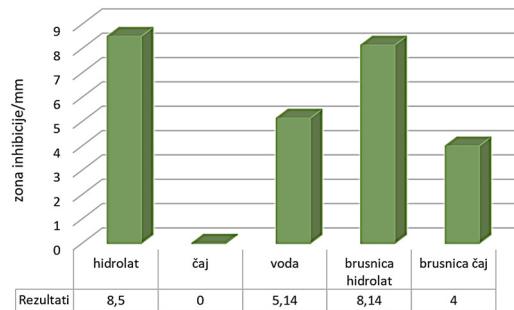
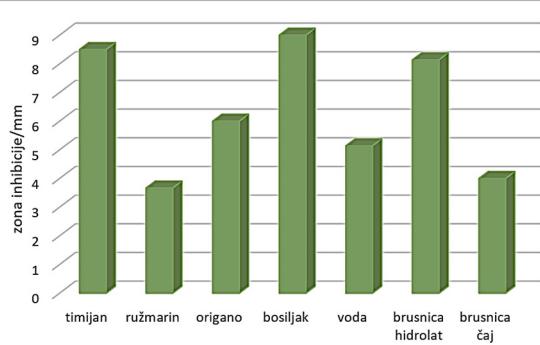
Prema slici 6, čaj ružmarina uzrokuje veću zonu inhibicije od hidrolata brusnice. Na grafu na slici 7, vidljivo je kako i čaj i hidrolat divljeg mažurana uzrokuje značajno manje zone inhibicije u usporedbi s hidrolatom brusnice. Na slici 8, vidljivo je kako hidrolat timijana uzrokuje veće zone inhibicije od hidrolata brusnice, dok čaj timijana ne uzrokuje vidljivu zonu inhibicije. Slike 9 i 10 usporedno prikazuju izmjerene zone inhibicije za hidrolate (slika 9) i čajeve (slika 10) odabranih biljnih vrsta.



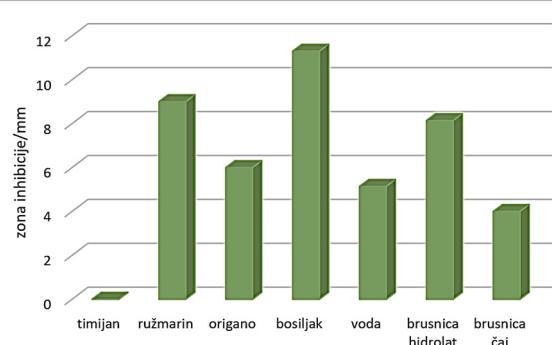
Slika 5. Zone inhibicije nakon 24 sata – *Ocimum basilicum* L.



Slika 6. Zone inhibicije nakon 24 sata – *Rosmarinus officinalis* L.

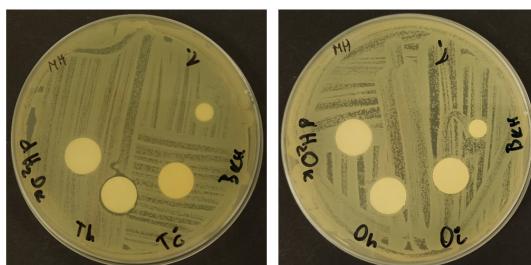
Slika 7. Zone inhibicije nakon 24 sata – *Origanum vulgare* L.Slika 8. Zone inhibicije nakon 24 sata – *Thymus vulgaris* L.

Slika 9. Komparativni prikaz rezultata (zona inhibicije nakon 24 h) za hidrolate istraživanih biljaka



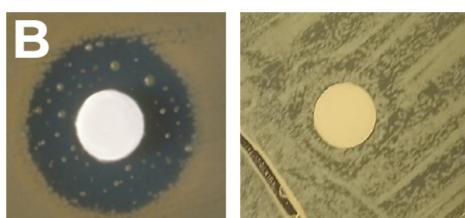
Slika 10. Komparativni prikaz rezultata (zona inhibicije nakon 24 h) za čajeve istraživanih biljaka

Na slici 11 prikazani su usporedo antibiogram tretmana pripravcima timijana koji je izazvao jasno vidljive i izražene zone inhibicije te antibiogram tretmana pripravcima divljeg mažurana koji je izazvao mutnije i manje izražene zone inhibicije.



Slika 11. Usporedba antibiograma – timijan (lijevo) i divlji mažuran (desno). U smjeru kazaljke na satu, na Petrijevim zdjelicama označeni su: broj ponavljanja te papirnatim diskovima natopljenih hidrolatom brusnice, čajem biljke, hidrolatom biljke i destiliranom vodom

U nekim uzorcima primijećene su točkice unutar zone inhibicije (slika 12) u kojima pojedine bakterije mogu rasti, a u nekoliko uzoraka primijećeni su prstenovi koji su vidljivi na slici 13.

Slika 12. Točkice unutar zone inhibicije pojedinih uzoraka (*izvor lijeve (B) fotografije: www.theory.labster.com)

Slika 13. Primjer „prstenova“ na primjeru tretmana hidrolatom brusnice



RASPRAVA

Prema istraživanju Moreira i sur. (2005), tretman eteričnim uljem bosiljka uzrokuje zone inhibicije od 11 do 15 mm. Uspoređujući rezultate, možemo uvidjeti kako tretman čajem iste vrste dovodi do sličnih rezultata, dok tretman hidrolatom rezultira većim zonama inhibicije. S obzirom na dostupnost i sigurnost uporabe hidrolata i čajeva u dugoročnom liječenju, možemo izvesti zaključak kako se vodene komponente destilacije mogu koristiti za uspješno liječenje.

Prema Araújo Silva i sur. (2015), bosiljak u svome sastavu sadrži najveći postotak linalola (3,7-dimetilokta-1,6-dien-3-ol), monoterpekskog alkohola. Prema njihovome istraživanju, u kojem su korištene kombinacije eteričnog ulja bosiljka i sintetičkih antibiotika (imipenem/cilastatin i ciprofloxacin), vidljivo je kako se kombiniranjem sintetičkih i prirodnih antibiotika poboljšava antibakterijska sposobnost pojedinog lijeka. Prema njihovome istraživanju, linalol uspješno inhibira bakterijsku vrstu *Pseudomonas aeruginosa L.*. Prema istraživanju Liu i sur. (2020), linalol uništava sustav staničnih membrana bakterije zbog čega one postaju propusnije i osjetljivije. Daljnji rezultati pokazuju kako ova tvar narušava elektrostatsku prirodu membrane te dovodi do nepravilnog metabolizma stanice. Slijedom navedenog, linalol uspješno narušava homeostazu prokariotske stanice što dovodi do inhibicije. Iako se ovo istraživanje vršilo na vrsti koja pripada drugom rodu, vjerojatno je da ovaj spoj uzrokuje i inhibiciju *E. coli*.

Također značajne rezultate uzrokovao je ružmarin. Prema Zhang i sur. (2012), ružmarin u svome sastavu sadrži najveći postotak cirsimaritina. U istraživanju Ren i sur. (2019) zaključeno je kako uspješnu inhibiciju različitih bakterija mogu uzrokovati zajednička djelovanja cirsimaritina, isorhamnetina i hispidulina. S obzirom da je vjerojatno antibakterijsko djelovanje cirsimaritina, zona inhibicije za ružmarin u ovom istraživanju pripisuje se djelovanju tog spoja.

Mogući razlozi za uočenu blago mutnu zonu inhibicije u pojedinih uzoraka su prezasićenost populacije, nepravilno izolirana kultura ili obilježje Mueller-Hinton agara da blago mijenja boju/transparentnost u prisutnosti peroksidaza i vodikovog peroksida (Galeazzi i sur., 1990). Bakterija *E. coli* sadrži citokrom c-peroksidazu u uvjetima prisutnosti vodikovog peroksida i manjka kisika, zbog čega bakterija može uzrokovati promjenu transparentnosti (Khademian i Imlay, 2017). U nekim uzorcima primjećene su točkice unutar zone inhibicije u kojima pojedine bakterije mogu rasti. Kao razlog tome navodi se potencijalna rezistentnost bakterija kolonije (Labster Theory, 2021.). U nekoliko uzoraka primjećeni su prstenovi. Prema odgovorima na blogu (ResearchGate, 2020), razlog tome može biti istekao rok trajanja papirnatih diskova ili efluks pumpe, proteini u građi bakterije koji imaju sposobnost „izlučivanja“ štetnih tvari iz stanice bakterije. Visoke koncentracije antibiotika potiču rad efluks pumpi dok određene, niže koncentracije antibiotika inhibiraju bakterije (Amaral i sur., 2014).

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja doneseni su sljedeći zaključci:

- hidrolati biljnih vrsta bosiljka, ružmarina, origana i timijana pokazuju zonu inhibicije rasta bakterije *E. coli* što ukazuje na njihovo antibakterijsko djelovanje
- svi čajevi, osim čaja timijana, pokazuju zonu inhibicije rasta *E. coli* što ukazuje na njihovo antibakterijsko djelovanje
- u uzorcima tretiranima čajem bosiljka izmjerene su najveće zone inhibicije
- hidrolat bosiljka pokazuje veću zonu inhibicije od hidrolata ružmarina



- ☞ čaj bosiljka pokazuje veću zonu inhibicije od hidrolata bosiljka
- ☞ uz daljnje istraživanje ove teme, moguća je opravdanost alternativnog liječenja hidrolatima i čajevima biljnih vrsta kao dodatak prehrani.

ZAHVALA

Ovim putem želim se zahvaliti: Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Split na čistoj kulturi *E. coli*, Zavodu za javno zdravstvo Zadar na dopuštenju korištenja inkubatora i autoklava, dr. Slavenu Joziću na savjetima i pomoći, profesorici Sanji Vlahović na lekturi, svim zaposlenicima škole, znatiželjnim kolegama, a ponajviše svojoj mentorici bez koje se ovakav projekt ne bi realizirao.

LITERATURA

- Amaral L., Martins A., Spengler G., Molnar J. 2014. Efflux pumps of Gram-negative bacteria: what they do, how they do it, with what and how to deal with them. *Frontiers in Pharmacology* 4. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00168>
Pristupljeno 1. 3. 2022.
- Araújo Silva V., Pereira da Sousa J., de Luna Freire Pessôa H., Fernanda Ramos de Freitas A., Douglas Melo Coutinho H., Beuttenmuller Nogueira Alves L., Oliveira Lima E. 2015. Ocimum basilicum: Antibacterial activity and association study with antibiotics against bacteria of clinical importance. *Pharmaceutical Biology* 54(5), 863–867.
<https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1088551> Pristupljeno 1. 3. 2022.
- Bistgani, Z. E., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F., & Morshedloo, M. R. 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of Thymus vulgaris L. and Thymus daenensis Celak. *Industrial Crops and Products* 135, 311-320. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.055>
Pristupljeno 19. 4. 2022.
- Duraković S., Redžepović S. 2002. Uvod u opću mikrobiologiju. Kugler, Zagreb.
- Galeazzi L., Groppa G., Giunta S. 1990. Mueller-Hinton broth undergoes visible oxidative color changes in the presence of peroxidase and hydrogen peroxide. *Journal of Clinical Microbiology* 28(9), 2145–2147.
<https://doi.org/10.1128/jcm.28.9.2145-2147.1990> Pristupljeno 22. 2. 2022.
- Guasch-Ferré M. i Willett W.C. 2021. The Mediterranean diet and health: a comprehensive overview. *Journal of Internal Medicine* 290:3. <https://doi.org/10.1111/joim.13333> Pristupljeno 19. 4. 2022.
- Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. 2021. destilacija. Leksikografski zavod Miroslav Krleža.
<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=14783> Pristupljeno 11. 1. 2022.
- Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. 2021. fenoli. Leksikografski zavod Miroslav Krleža.
<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=19233> Pristupljeno 2. 3. 2022.
- Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. 2021. hranjiva podloga. Leksikografski zavod Miroslav Krleža.
<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=26314> Pristupljeno 2. 3. 2022.
- Kalenić S. i sur. 2013. Medicinska mikrobiologija. Medicinska naklada, Zagreb.
- Khademian M., Imlay J. A. 2017. Escherichia coli cytochrome c peroxidase is a respiratory oxidase that enables the use of hydrogen peroxide as a terminal electron acceptor. *Proceedings of National Academy of Sciences* 114:33.
<https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1701587114> Pristupljeno 1. 3. 2022.
- Labster Theory 2021. Zones of inhibition. <https://theory.labster.com/zoneofinhibition/>. Pristupljeno 23. 2. 2022.
- Lesinger I. 2006. Liječenje začinskim biljem (1. i 2. dio). Adamić, Rijeka
- Liu X., Cai J., Chen H., Zhong Q., Hou Y., Chen W., Chen W. 2020. Antibacterial activity and mechanism of linalool against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Pathogenesis* 141. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.103980> Pristupljeno 1. 3. 2022.
- Masood N., Chaudhry A., Saeed S., Tariq P. 2007. Antibacterial effects of oregano (*Origanum Vulgare*) against gram negative bacilli. *Pakistan Journal of Botany* 39: 609–613. Pristupljeno 14. 12. 2021.
<https://dergipark.org.tr/tr/pub/jan/issue/40020/423038>
- Meytch M. Essential oil. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/topic/essential-oil> Pristupljeno 1. 3. 2022.
- Moreira, M. R., Ponce, A. G., dell Valle, C. E., Roura, S. I. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Science and Technology* 38(5)0, 565-570 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.012>
Pristupljeno 19. 4. 2022.
- Nakagawa S., Hillebrand G. D., Nunez G. 2020. *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) Extracts Containing Carnosic Acid and Carnosol are Potent Quorum Sensing Inhibitors of *Staphylococcus aureus* Virulence. Department of Pathology and Rogel Cancer Center, University of Mich. *Antibiotics* 31;9(4), 149. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040149>
Pristupljeno 19. 4. 2022.
- Palijan G. 2013. Radni materijal – Praktikum iz mikrobiologije: bakteriologija. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju, Zavod za kvantitativnu ekologiju. <http://biologija.unios.hr/webbio/wp-content/uploads/2013/predavanja/mikrobiologija-bakteriologija.pdf> Pristupljeno 20. 12. 2021.
- Plantea, Brusnica. <https://www.plantea.com.hr/brusnica/> Pristupljeno 8. 1. 2022.



Radušienė, J., Ivanauskas, L., Janulis, V., & Jakštas, V. 2008. Composition and variability of phenolic compounds in *Origanum vulgare* from Lithuania. Biologija, 54(1), 45-49. <http://dx.doi.org/10.2478/v10054-008-0009-5> Pristupljeno 19. 4. 2022.

Ren X., Bao Y., Zhu Y., Liu S., Peng Z., Zhang Y., Zhou G. 2019. Isorhamnetin, Hispidulin, and Cirsimarinin Identified in *Tamarix ramosissima* Barks from Southern Xinjiang and Their Antioxidant and Antimicrobial Activities. Molecules 24(3): 390. <https://doi.org/10.3390/molecules24030390> Pristupljeno 19. 4. 2022.

ResearchGate

https://www.researchgate.net/post/Is_there_any_explanation_for_this_pattern_in_Kirby_Bauer_disk_diffusion_test. Pristupljeno 23. 2. 2022.

Sienkiewicz M., Łysakowska M., Pastuszka M., Bienias W., Kowalczyk E. 2013. The Potential of Use Basil and Rosemary Essential Oils as Effective Antibacterial Agents. Molecules 18: 9334-9351 <doi: 10.3390/molecules18089334> Pristupljeno 15. 12. 2021.

Toplak Galle K. 2001. Hrvatsko ljekovito bilje. Mozaik knjiga, Zagreb

Zhang Y., Smuts J. P., Dodbiba E., Rangarajan R., Lang J. C., Armstrong D. W. 2012. Degradation Study of Carnosic Acid, Carnosol, Rosmarinic Acid, and Rosemary Extract (*Rosmarinus officinalis* L.) Assessed Using HPLC. Journal of Agricultural and Food Chemistry: 60(36), 9305–9314 <doi: 10.1021/jf302179c> Pristupljeno 1. 3. 2022.



Utjecaj hidroponskog uzgoja biljaka na klijanje i rast bosiljka (*Ocimum basilicum L.*) i zelene salate (*Lactuca sativa L.*) u usporedbi s tradicionalnim načinom uzgoja

Goran Narančić, 3. razred

XV. gimnazija, Zagreb

Mentor: Mihaela Marceljak Ilić

SAŽETAK

Hidroponski uzgoj metoda je uzgoja biljaka u hranjivoj vodenoj otopini bogatoj nutrijentima s krutim medijima ili bez njih, u zaštićenom prostoru te je kao takav alternativa tradicionalnom uzgoju u zemlji. Osim mogućega održivog gospodarenja resursima (manja potrošnja vode, lokalizirana proizvodnja blizu potrošnje) hidroponski uzgoj omogućuje biljci maksimizaciju unosa nutrijenata i vode. Cilj je istraživanja usporediti hidroponski uzgoj s tradicionalnim uzgojem u zemlji, i to mjerjenjem i analizom kvantitativnih obilježja klijanja i rasta bosiljka i zelene salate. 100 sjemenki svake biljke (ukupno 200) podijeljeno je u 4 skupine s jednakim brojem sjemenki: bosiljak u hidroponskom uzgoju, bosiljak u zemlji, zelena salata u hidroponskom uzgoju i zelena salata u zemlji. Svi uzorci imali su jednaku temperaturu, izvor, tip i količinu svjetlosti, količinu vode i nutrijenata. Mjerena obilježja bila su udio klijavosti, prosječna brzina klijavosti, duljina korijena, broj korjeničica, broj, površina i masa listova. Proveden je t-test kao statistička metoda za testiranje značajnosti razlike između dviju grupa uzoraka. Rezultati su pokazali da su sva mjerena obilježja statistički značajno veća u hidroponskom uzgoju u usporedbi s tradicionalnim uzgojem. Unatoč tomu, treba napomenuti da je broj isklijanih uzoraka bosiljka u zemlji bio premalen (16) kako bi se vjerodostojno odredile razlike u vrsti uzgoja. Uvezvi sve rezultate u obzir, potvrđena je hipoteza da je zbog lakšeg upijanja vode i nutrijenata klijavost i rast biljaka veća u hidroponskom uzgoju.

Ključne riječi: hidroponski uzgoj biljaka, bosiljak, zelena salata, zemlja

UVOD

Rast svjetske populacije i očuvanje okoliša nezaobilazne su teme koje će oblikovati budućnost ljudske vrste u nadolazećim desetljećima. Prema UN-ovoj organizaciji za prehranu i poljoprivredu FAO (FAO, 2017), očekuje se da će svjetsko stanovništvo do 2050. godine dostići brojku od 10 milijardi. Sukladno tomu, isti izvor prognozira i porast potražnje poljoprivrednih proizvoda za 50% u odnosu na 2013. godinu. Pridoda li se tomu podatak da trenutno osmina svjetskog stanovništva gladuje (FAO, 2014), bit će velik logistički problem zadovoljiti povećane prehrambene potrebe budući primjenjivane trenutačne tradicionalne metode uzgoja biljaka u zemlji.

Naime, trenutnim industrijskim poljoprivrednim uzgojem u zemlji nekad plodno tlo biva uništeno erozijom, salinizacijom i kemijskim zagađenjem. Iz tog se razloga poljoprivrednici odlučuju na sječu šuma u potrazi za plodnim tlom. Prema Svjetskoj organizaciji za zaštitu prirode WWF-u (WWF, 2020) i FAO-u (FAO, 2017), poljoprivredna ekspanzija glavni je uzrok krčenja šuma, izravno uzrokujući 80% ukupne svjetske deforestacije. Prema FAO-u (2014), većina iskoristivog tla za poljoprivredu već je iskorištena, stoga će čovječanstvo biti pred izazovom prehranjivanja rastuće svjetske populacije sadašnjim kapacitetima. Također, isti izvor ističe kako tradicionalni uzgoj biljaka u zemlji troši iznimne količine vode dok su svjetske zalihe sve manje, a trošenjem velikih količina vode iz okoliša današnja poljoprivreda uzrokuje i degradaciju prirodnih divljih staništa. Ne treba zanemariti često nepropisno korištenje gnojiva i pesticida koji završavaju u rijekama, jezerima i morima, čime se zagađuje voda (FAO, 2014). Poljoprivredna industrija kakva je danas velika je prijetnja i bioraznolikosti, što zbog ekskluzivnog uzgoja i promidžbe ograničenog broja sojeva i vrsta biljaka koje joj najviše odgovaraju,

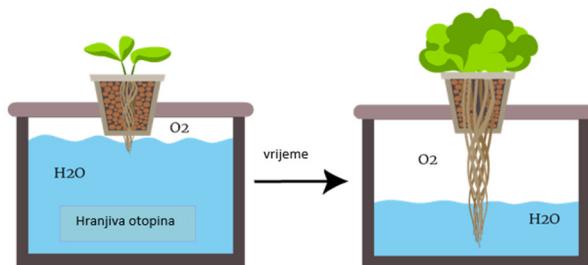


što zbog prije spomenute deforestacije (FAO, 2014). Uzmemo li sve to u obzir, više je nego očito da postojeće stanje u poljoprivredi nije održivo te da je potrebna promjena.

Upravo je hidroponski uzgoj alternativa tradicionalnom uzgoju i jedno od mogućih rješenja za budućnost poljoprivrede. Hidroponski uzgoj metoda je uzgoja biljaka u hranjivoj vodenoj otopini (bogatoj nutrijentima odnosno anorganskim ionima neophodnim za život biljaka) u zaštićenom prostoru (npr. u staklenicima i plastenicima), s krutim medijima ili bez njih, odnosno bez tradicionalnog uzgoja u zemlji. Takav način uzgoja omogućuje biljkama maksimizaciju unosa nutrijenata i vode, budući da je njihovo korijenje uronjeno u otopinu hranjivih tvari, za razliku od velike potrošnje energije na stvaranje kompleksnih korjenastih sustava i upijanje tvari iz zemlje u tradicionalnom uzgoju. Hidroponski uzgoj osigurava cjelogodišnji uzgoj biljaka na površinama na kojima uvjeti nisu pogodni, na tlima smanjene plodnosti (kao i onima uništenim poljoprivredom) te u uvjetima kada je proizvodnja ograničena veličinom površine ili nepovoljnim kemijsko-biološkim svojstvima tla. Prema Grujić Tomas (2019), prednosti su hidroponskog uzgoja potpuno kontrolirani uvjeti uzgoja, visok intenzitet proizvodnje i stabilan prinos po jedinici površine. Hidroponski uzgoj rješava i probleme koje stvara tradicionalan uzgoj: smanjena je potrošnja vode jer se voda ponovno koristi ili reciklira, smanjeno je korištenje zaštitnih sredstava, lokalizirana proizvodnja bliže je mjestu potrošnje (manje zagađenja uzrokovanih transportom proizvoda), plodovi ranije dozrijevaju te je smanjena pojava stresa kod biljaka zbog optimalnih uvjeta rasta i razvoja (Grujić Tomas, 2019). Naravno, hidroponski uzgoj ima i svoje nedostatke. Najveći je problem visina troškova i potreba za stalnim nadgledanjem i održavanjem. Veliki troškovi posljedica su korištenja automatizirane opreme (u velikim sustavima), visoko kvalitetni supstrati i specijalna gnojiva (Grujić Tomas, 2019). Ipak, isti izvor smatra se da će tehnološki napredak u budućnosti omogućiti veću ekonomsku isplativost.

Upravo zbog spomenutih optimalnih uvjeta za rast i razvoj te potpune kontrole nad uvjetima uzgoja, velikom se potencijalnom prednošću hidroponskog pred konvencionalnim uzgojem smatra veća produktivnost – veća količina konačnog proizvoda (usjeva) koji brže rastu i razvijaju se nego usjevi u zemlji. Riječ je o parametrima poput bolje klijavosti, više i brže rastuće stabljike, razgranatijih i dužih korijena, većeg broja, površine i mase listova (Gashgari i sur., 2018).

Hidroponski sustav koji je korišten pripada Kratky metodi uzgoja (slika 1). Kratky metoda temelji se na uzgoju biljaka postavljenih neposredno iznad rezervoara s hranjivom vodenom otopinom (Maurya, 2017). Radi se o vrlo učinkovitoj metodi jer o otopini, jednom kada je pripremljena, ne treba mnogo brinuti, samo je redovito mijenjati. Kako vrijeme odmiče, korijeni biljke upijaju vodu i nutrijente te razina vodene otopine u rezervoaru pada. Vrhovi korijena i dalje su umočeni u hranjivu otopinu, no gornji dijelovi korijena tada su izloženi vrlo vlažnom zraku u rezervoaru pa tako mogu jednostavno i učinkovito upijati kisik (Maurya, 2017).



Slika 1 Pojednostavljeni prikaz Kratky metode (prilagođeno prema: Trees.com, 2022)



Biljke upotrijebljene u ovom istraživanju bile su bosiljak i zelena salata.

Bosiljak (*Ocimum basilicum L.*) začinska je biljka koja pripada porodici usnača (Lamiaceae). Bosiljak je jednogodišnja zeljasta biljka, a njegova uspravna stabljika može doseći visinu i do 80 cm. Korijen bosiljka razgranat je i može prodrijeti do 40 cm dubine. Prema Zrile (2019), sjeme niče u prvih 14 dana nakon sjetve. Za klijanje optimalna je temperatura oko 20 °C, a može klijati i na temperaturama od 7 do 27 °C. Osjetljiv je na mraz i stoga se najbolje razvija u uvjetima dugog dana s puno sunca, a potrebno mu je barem 14 sati svjetlosti dnevno. Bosiljku odgovara pH-vrijednost između 5,6 i 6,2 (Owen i sur., 2018). Također, bosiljak ne podnosi suše jer je vrlo osjetljiv na nedostatak vlage zbog velike količine vode u biljnog tkivu. Najčešće se koristi za prehrambene i kozmetičke proizvode (Zrile, 2019).

Zelena salata (*Lactuca sativa L.*) jednogodišnja je zeljasta biljka iz porodice glavočika (Asteraceae). Uglavnom se koristi u hranidbene svrhe; jede se svježa jer se tako najbolje iskorištava njezina hranidbena vrijednost. Prema Lošonskom (2020), stabljika zelene salate u generativnoj fazi može narasti do 1,5 m. Glavni je korijen razgranat, mesnat i vretenastog oblika iz kojega sa strane izbijaju korjenove žilice te obično seže do u 30 cm dubine. Minimalna je temperatura zraka za uzgoj salate oko 10°C, no za veću proizvodnju treba je uzgajati na višim temperaturama. Klija već pri temperaturi od 5 do 6 °C, a raste pri 15 – 25 °C (Lošonski, 2020). Salata klija gotovo na svakom tlu, a na dobrom vrtnom tlu uspijeva i bez gnojidbe. Odgovara joj pH-vrijednost vode između 5,5 i 6,0 (Henry i sur., 2018). Salata pripada u skupinu biljaka dugog dana; potrebno joj je između 10 i 14 sati svjetlosti dnevno (Lošonski, 2020). Glavni nutrijenti potrebni za rast biljke su dušik, fosfor i kalij (Silva i Uchida, 2000). Dušik je biljkama važan za sintezu klorofila, ali i za formaciju aminokiselina pa tako i svih proteina u biljci. Fosfor je biljci bitan za stvaranje molekula ATP-a, kao i za sintezu molekula DNA, pa tako njegova deficijencija može usporiti ili potpuno onemogućiti daljnji rast biljke. Kalij služi za regulaciju biljnog metabolizma, uvelike pomažući aktivaciji enzima. U uzgoju u zemlji, mineralne su tvari sadržane u samome tlu, ali i u gnojivima kojima se biljke tretiraju. U hidroponskome uzgoju koncentracija svih nutrijenata može se precizno pratiti; oni se nalaze u vodenoj otopini u kojoj je natopljeno korijenje.

Cilj je ovoga istraživanja usporediti hidroponski uzgoj s tradicionalnim uzgojem u zemlji i to mjeranjem i analiziranjem kvantitativnih obilježja klijanja i rasta odabralih biljaka. U kvalitativna obilježja klijanja ubrajaju se udio i prosječna brzina klijavosti, a u kvantitativna obilježja rasta visina stabljike, broj, površina i masa listova te broj korjenčića i duljina korijena. U svrhu ovoga istraživanja, boljom klijavosti smatra se veći udio i veća prosječna brzina klijavosti (od one u tradicionalnome uzgoju), a rastom se smatra viša stabljika, veći broj i prosječna površina i masa listova, bolja razvijenost i razgranatost korijena (Gashgari i sur., 2018). Temeljem proučavanja literature (Grujić Tomas, 2019; Gashgari i sur., 2018) postavljene su hipoteze ovoga istraživanja: obje biljke bolju će klijavost i rast imati u hidroponskom uzgoju zbog uzgoja u kontroliranim uvjetima i lakšeg upijanja hranjivih tvari i vode iz hranjive otopine negoli iz zemlje.

METODE RADA

Materijali korišteni u ovom istraživanju dvije su vrste biljaka dvosupnica – bosiljak (*O. basilicum*) i zelena salata (*L. sativa*). Sjeme bosiljka bilo je sorte *genovese* a zelena salata bila je sorte *kristalka*. Sjeme obiju vrsta nabavljeno je u prodavaonici poljoprivrednih proizvoda. Supstrat korišten za sadnju biljaka je pamučna vata; kupljena je sterilizirana u zatvorenom vakumiranom pakiranju. Pri pripremi hranjivih otopina upotrijebljena je destilirana voda radi potpune kontrole tvari koje ulaze u sastav



hranjivih otopina. Korištena je LED rasvjeta, žarulja snage 10W, svjetla bijele boje (4000K) a intenzitet svih korištenih rasvjetnih tijela je 800 lm. Duljina svjetiljki iznosi 30 cm i postavljene su 30 cm povrh sjemenki. Korišteno je organsko gnojivo Perfect Sensi Grow A+B prilagođeno za razrjeđivanje u vodi i za uzgoj u tlu i hidroponskim hranjivim otopinama (Botanika, 2022). Gnojivo se sastoji od dviju komponenata; A i B, s različitim koncentracijama nutrijenata, te se obje komponente stavljuju u konačnu hranjivu otopinu. A komponenta gnojiva sadrži 3% dušika i 3% kalcija, dok B komponenta sadrži 1% dušika, 2% fosfora, 6% kalija te 1,3% sumpora.

Tijekom istraživanja upotrebljavane su 4 hidroponske stanice (slika 2), svaka s kapacitetom rezervoara za hranjivu otopinu od 6 L i 50 otvora za stavljanje supstrata i sjemena.



Slika 2 Hidroponska stanica

Zemlja korištena za uzorke tradicionalnog uzgoja organska je povrtna zemlja, bez dodanih gnojiva, s NPK omjerom dušika fosfora i kalija 100:100:300 (mg/L), i udjelom hranjivih soli 1,6 KCl/L. S obzirom na to da i u tradicionalnom uzgoju u zemlji postoji udio hranjivih soli, one ne bi trebale utjecati na vjerodostojnost rezultata, pogotovo s obzirom na to da je ovo zemlja s najmanjim udjelom soli dostupna u prodaji.

Korišteni su i digitalni termometar ($\pm 0,1^{\circ}\text{C}$), digitalna vaga ($\pm 0,001 \text{ g}$), pH metar ($\pm 0,1$) te pomicna mjerka ($\pm 0,1 \text{ cm}$).

Istraživanje je provedeno u vremenskom periodu od 30 dana, kako bi obje biljke duboko ušle u vegetativnu fazu te bi se moglo primijeniti sve metode rada. Metode primjenjene na odabir biljaka, grupiranje uzorka, volumen gnojiva i određivanja početka vegetativne faze originalne su.

Na početku istraživanja, supstrat pamučne vune na dva je sata natopljen u vodi. Nakon toga izvađen je i postavljen u odgovarajuće rupice, u dvije hidroponske stanice, a u preostale dvije stanice stavljena je zemlja, tako da je u potpunosti popunila i rupice i rezervoar stanice. Zatim je u svaki od 50 otvora hidroponskih stanica stavljena po jedna sjemenka. Dvije stotine sjemenki postavljene su u četiri grupe uzorka (svaka s 50 uzoraka) u ovome istraživanju:

- 1) bosiljak u hidroponskom uzgoju
- 2) bosiljak u zemlji
- 3) zelena salata u hidroponskom uzgoju
- 4) zelena salata u zemlji.



Hranjiva otopina bila je identična za sve uzorke (u grupama uzoraka u zemlji, ista je otopina korištena za njihovo zalijevanje). U početku istraživanja radilo se samo o destiliranoj vodi bez gnojiva, jer se ono dodavalo tek u vegetativnoj fazi prema dozama prikazanim u tablicama 1, 2 i 3.

Tablica 1 Volumen gnojiva u prvom tjednu vegetativne faze

Tip gnojiva	Volumen gnojiva/ ml/L
A	1
B	1

Tablica 2 Volumen gnojiva u drugom tjednu vegetativne faze

Tip gnojiva	Volumen gnojiva/ ml/L
A	2
B	2

Tablica 3 Volumen gnojiva u trećem i četvrtom tjednu vegetativne faze

Tip gnojiva	Volumen gnojiva/ ml/L
A	4
B	4

Hranjiva otopina, kao što je vidljivo iz tablica, mijenjana je jedanput tjedno, kada je mjerena i njezin pH (mora biti između 5 i 6). Gnojivo je dodavano nakon što je više od 50% sjemenki prokljalo te imalo barem 3 lista, što se smatralo početkom vegetativne faze.

Tijekom cijelog istraživanja, LED rasvjeta bila je uključena 12 h dnevno za stanice sa zelenom salatom te 14 h dnevno za stanice s bosiljkom. Temperatura je bila konstantna; iznosila je 25 °C.

Tijekom germinacijske faze svakodnevno su u Excel dokument bilježeni podatci o klijanju svake sjemenke s danom kada je prokljala. Udio klijavosti izračunat je formulom:

$$\text{Udio klijavosti} = \frac{\text{broj prokljalih sjemenki}}{\text{ukupan broj posađenih sjemenki}} \cdot 100\%$$

Računato je i prosječno vrijeme klijanja (MGT) prema formuli (Kulkarni i sur., 2007):

$$MGT = \frac{\sum(D \cdot n)}{N}$$

D – broj dana od početka istraživanja (prvi dan=0)

n – broj isklijalih sjemenki na odabrani dan D

N – ukupan broj isklijalih sjemenki u grupi uzorka

Tijekom istraživanja mjerena je visina stabljike svaki šesti dan, ukupno 5 puta. Visina je mjerena pomicnom mjericom od razine supstrata/zemlje do vrha stabljike. Tada se računala prosječna visina ($V_{prosjek}$) za svaku od grupe uzorka, sljedećom formulom:

$$V_{prosjek} = \frac{(V_1 + V_2 + V_3 + \dots)}{n}$$

n – broj biljaka u grupi uzorka

V_1, V_2, \dots - visine pojedinačnih stabljika.

Na kraju istraživanja mjerili su se i statistički obrađivali sljedeći parametri.



Duljina korijena

Duljina korijena mjerena je pomicnom mjericom od početka do kraja najdužeg prisutnog korijena. Kod uzoraka koji su rasli u zemlji, na kraju istraživanja zemlja je namočena vodom te su biljke (zajedno s korijenom) pažljivo lopaticom izvađene iz zemlje i isprane destiliranom vodom.

Računata je prosječna duljina korijena ($DK_{prosjek}$) za svaku grupu uzoraka:

$$DK_{prosjek} = \frac{(DK_1 + DK_2 + DK_3 + \dots)}{n}$$

n – broj biljaka grupi uzoraka

DK_1, DK_2, \dots - duljine korijena pojedinačnih biljaka.

Broj korjenčića

Broj korjenčića brojan je ručno na svakoj biljci. Računat je prosječni broj korjenčića ($BK_{prosjek}$) za svaku grupu uzoraka:

$$BK_{prosjek} = \frac{(BK_1 + BK_2 + BK_3 + \dots)}{n}$$

n – broj biljaka u grupi uzoraka

BK_1, BK_2, \dots - broj korjenčića pojedinačnih biljaka.

Broj listova

Broj listova brojan je ručno na svakoj biljci. Računat je prosječni broj listova ($BL_{prosjek}$) za svaku grupu uzoraka:

$$BL_{prosjek} = \frac{(BL_1 + BL_2 + BL_3 + \dots)}{n}$$

n – broj biljaka u grupi uzoraka

BL_1, BL_2, \dots - broj listova pojedinačnih biljaka.

Površina listova

Površina listova mjerena je za svaki list zasebno. List je stavljan na papir s kvadratičima površine 1 cm² te je bilježen broj zauzetih kvadratića i površine lista. Računata je prosječna površina lista ($PL_{prosjek biljke}$) za svaku biljku:

$$PL_{prosjek biljke} = \frac{(PL_1 + PL_2 + PL_3 + \dots)}{n}$$

n – broj listova biljke

PL_1, PL_2, \dots - površina pojedinačnog lista

Tada se računala prosječna površina lista ($PL_{prosjek}$) za svaku grupu uzoraka:

$$PL_{prosjek} = \frac{(PL_{prosjek biljke 1} + PL_{prosjek biljke 2} + PL_{prosjek biljke 3} + \dots)}{n}$$

n – broj biljaka u grupi uzoraka

$PL_{prosjek biljke 1}, PL_{prosjek biljke 2}, \dots$ - prosječna površina lista svake biljke u grupi uzoraka.

Masa listova

Masa listova mjerena je prikupljanjem svih listova pojedinačne biljke, pažljivim otkidanjem od biljke kako se ne bi izgubio dio listova te njihovim vaganjem na digitalnoj vagi. Računata je prosječna masa listova ($ML_{prosjek}$) za svaku grupu uzoraka:



$$ML_{prosje} = \frac{(ML_1 + ML_2 + ML_3 + \dots)}{n}$$

n – broj biljaka u grupi uzorka

ML_1, ML_2, \dots - masa listova pojedinačnih biljaka.

Statistička obrada

U statističkoj obradi prikupljenih podataka za svaki je prosjek računata i standardna devijacija (SD) radi utvrđivanja raspršenja podataka u odnosu na dobiveni prosjek. Drugim riječima, kako bi se utvrdilo koliko se pojedinačne vrijednosti odmiču od prosječne vrijednosti te koliko je ta prosječna vrijednost vjerodostojna. Standardna devijacija računata je po sljedećoj formuli:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})}{n}}$$

x_i – pojedinačna vrijednost u uzorku

\bar{x} – aritmetička sredina svih vrijednosti u uzorku

n – broj vrijednosti u uzorku.

Nadalje, da bi se utvrdilo je li razlika između prikupljenih morfometrijskih podataka iste biljke u dvama zadanim medijima (hidroponskom uzgoju i zemljji) statistički značajna, korišten je t-test. T-test uspoređuje dvije dobivene aritmetičke sredine te na temelju izračunavanja t-vrijednosti i uspoređivanja s pripadajućom vrijednosti u tablici t-distribucije zaključuje postoji li statistički značajna razlika između dviju aritmetičkih sredina. T-vrijednosti računate su pomoć mrežnog kalkulatora (Graph Pad, 2022). Što je t-vrijednost veća, to je omjer same razlike i pogreške te razlike veći, to jest razlika je tim više puta nadmašila svoju pogrešku. Što je t-vrijednost veća, smanjuje se rizik pogreške kada se utvrdi da je razlika značajna. Tada se dobivena t-vrijednost uspoređivala s odgovarajućom vrijednosti u tablici t-distribucije (Doughterty, 2002). Vrijednosti u tablici raspoređene su po dva parametra – stupnjevima slobode (df) i odabranom razinom slučajnosti (α). Stupnjevi slobode zapravo su maksimalan broj neovisnih vrijednosti koje mogu varirati. U ovom slučaju računaju se prema formuli:

$$df = n_1 + n_2 - 2$$

n_1, n_2 – broj mjerениh uzoraka (biljaka) u svakoj od grupa.

Odabrana razina značajnosti za svrhu ovoga istraživanja je 5% ($\alpha=0,05$), što se uzima kao najčešća razina značajnosti. Naposljetku, ukoliko je t-vrijednost veća od pripadajuće vrijednosti u tablici t-distribucije (s obzirom na stupnjeve slobode i razinu slučajnosti), zaključeno je da je razlika između dviju skupina značajna, a ukoliko je t-vrijednost manja od one u tablici, zaključeno je da razlika nije statistički značajna.

P-vrijednost dobivena t-testom smatrala se statistički značajnom ako je manja od 0,05, vrlo statistički značajnom ako je manja od 0,01, a izrazito statistički značajnom ako je bila manja od 0,001.

REZULTATI

Rezultati istraživanja izneseni su prema redoslijedu u metodologiji.

Slike 3, 4, 5 i 6 prikazuju uzorke na samom kraju istraživanja, to jest nakon 30 dana.



Utjecaj hidroponskog uzgoja biljaka na klijanje i rast bosiljka (*Ocimum basilicum L.*) i zelene salate (*Lactuca sativa L.*) u usporedbi s tradicionalnim načinom uzgoja

Mentor:
Marceljak Ilić M.



Slika 3 Bosiljak u hidroponiji nakon 30 dana



Slika 4 Bosiljak u zemlji nakon 30 dana



Slika 5 Zelena salata u hidroponiji nakon 30 dana



Slika 6 Zelena salata u zemlji nakon 30 dana

Slika 3 prikazuje uzorke bosiljka u hidroponiji nakon 30 dana. Vidljivo je da je većina uzoraka isklijala i ima zamjetno velike listove u usporedbi s uzorcima bosiljka u zemlji prikazanim na slici 4, na kojoj je jasno uočljivo kako je malen broj uzoraka uopće uspio te su i ti uzorci primjetno manji od onih u hidroponiji. Slika 5 prikazuje uzorke zelene salate u hidroponskom uzgoju nakon 30 dana. Valja uočiti da je velika većina uzoraka uspjela, listovi su veliki i zeleni te počinju zahtijevati veći prostor od onoga koji im je omogućen u poklopcu hidropomske stаницe. S druge strane, na slici 6 uzorci su zelene salate uzgojeni u zemlji nakon 30 dana. Po rupicama bez uspjelih biljaka vidljivo je kako je ipak manji broj uzoraka uspio (u odnosu na sliku 5) iako se i dalje radi o većini koja jest, a listovi su manji i biljke općenito niže od onih u hidroponskome uzgoju. Tablica 4 prikazuje udio klijavosti, a tablica 5 prosječno vrijeme klijanja (MGT) za svaku grupu uzoraka.

Tablica 4 Udio klijavosti za svaku grupu uzoraka

Udio klijavosti / %	Bosiljak		Zelena salata	
	Hidroponija	Zemlja	Hidroponija	Zemlja
	96	26	96	92

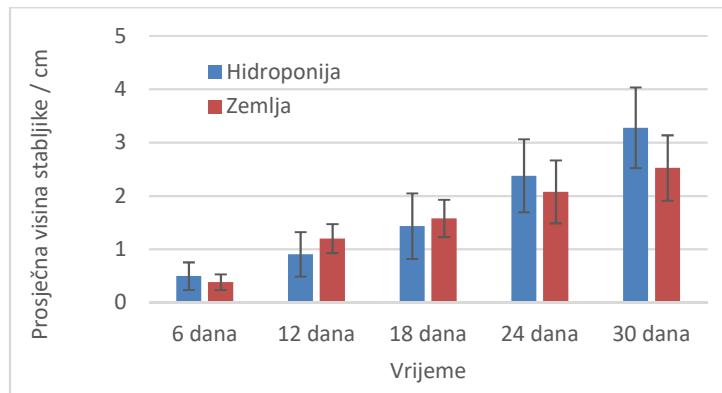
Tablica 5 Prosječna brzina klijavosti za svaku grupu uzoraka

Prosječna brzina klijavosti (MGT) / dan	Bosiljak		Zelena salata	
	Hidroponija	Zemlja	Hidroponija	Zemlja
	3,35	5,77	2,42	3,22



Iz priloženih rezultata udjela klijavosti i prosječne brzine klijavosti uočeno je kako su sjemenke u hidroponskom uzgoju imale bolju i bržu klijavost. Treba napomenuti kako je klijavost bosiljka u zemlji izrazito malena, samo 26%, ali i kako je udio klijavosti svih uzoraka zelene salate izrazito velik (>90%).

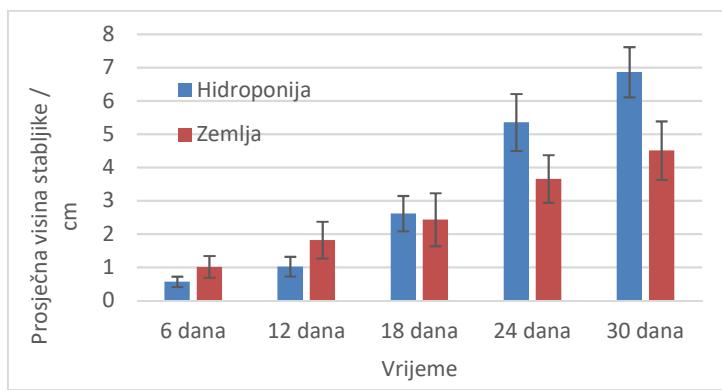
Slika 7 prikazuje rezultate izmjerjenih visina stabljike bosiljka u hidroponiji i u zemlji svakih 6 dana kroz 30 dana istraživanja. Uzete su aritmetičke sredine svih mjerjenja za grafički prikaz, a trake pogrešaka prikazuju standardnu devijaciju.



Slika 7 Prosječna visina stabljike bosiljka kroz 30 dana u ovisnosti o tipu uzgoja

Vidljivo je da je u prvoj polovici istraživanja rast stabljike bosiljka između uzoraka u hidroponskom uzgoju i u zemlji podjednak. Ipak, nakon 24 i 30 dana, očigledno je kako je konačan rast stabljike veći u hidroponskom uzgoju, što je i potvrđeno t-testom. T-vrijednost za bosiljak je 2,716, broj stupnjeva slobode 44, pripadajuća vrijednost u tablici t-distribucije je 2,015 a P-vrijednost 0,0095, te se razlika smatra statistički vrlo značajnom.

Iz slike 8 vidljivo je kako je u prvoj polovici eksperimenta visina stabljike bila podjednaka i veća u uzorcima u zemlji. Nakon 30 dana, jasno je vidljiva velika razlika u korist uzoraka u zemlji u hidroponiji.

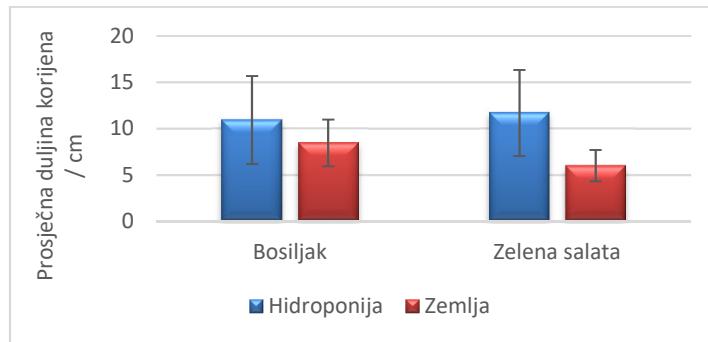


Slika 8 Prosječna visina stabljike zelene salate kroz 30 dana u ovisnosti o tipu uzgoja

Za grafički prikaz uzete su aritmetičke sredine svih mjerjenja, a standardna devijacija označena je trakama pogrešaka. T-vrijednost za zelenu salatu je 13,368, a radi se o 86 stupnjeva slobode što znači da je pripadajuća vrijednost u tablici t-distribucije 1,990. P-vrijednost je manja od 0,0001, zato je razlika smatrana statistički izrazito značajnom.



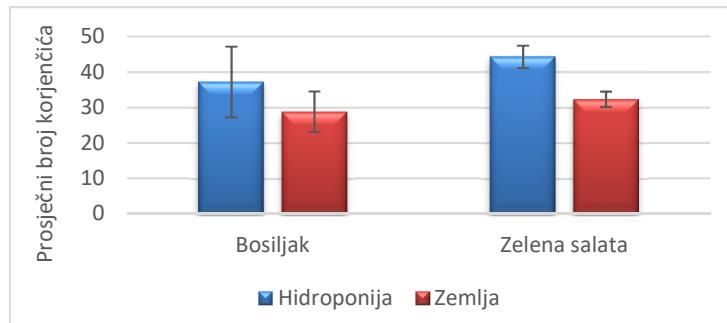
Na Slici 9 mogu se vidjeti veće duljine korijena u hidroponskom uzgoju. Vrijednosti uzete za grafički prikaz ponovo su aritmetičke sredine, a trake pogrešaka predstavljaju standardnu devijaciju.



Slika 9 Prosječna duljina korijena za bosiljak i zelenu salatu ovisno o tipu uzgoja

Prosječna duljina korijena bosiljka u hidroponskom uzgoju čak je 4,76 cm dulja, a zelene salate 3,24 cm dulja od onoga u zemlji. T-vrijednost za uzorke bosiljka je 2,892, a za uzorke zelene salate 3,841. P-vrijednost za bosiljak bila je 0,0059, a za zelenu salatu 0,0002. Razlike se smatraju statistički značajnima. Na slici 10 vidljivo je da je prosječni broj korjenčića bosiljka u hidroponiji za 8,39 veći od onih uzoraka u zemlji, dok je u zelenoj salati uzgajanoj u hidroponiji prosječni broj korjenčića bio skoro za 11 veći od onog u zemlji.

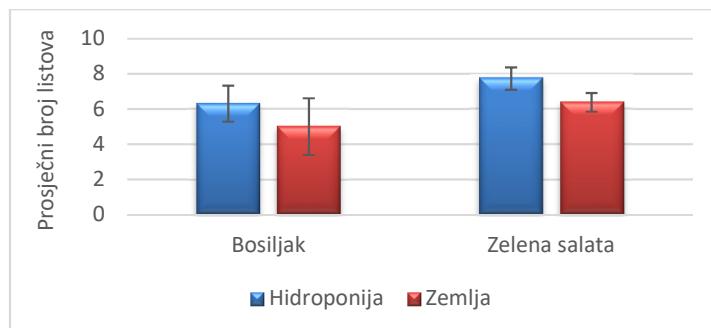
Na slici 10 prikazani su rezultati za broj korjenčića.



Slika 10 Prosječan broj korjenčića za bosiljak i zelenu salatu ovisno o tipu uzgoja

Prosječni broj korjenčića bosiljka u hidroponiji bio je za 8,39 veći od onih uzoraka u zemlji, dok je u zelenoj salati uzgajanoj u hidroponiji prosječni broj korjenčića bio skoro za 11 veći od onog u zemlji. T-vrijednost za bosiljak bila je 2,376, a P-vrijednost 0,0220 te se razlika smatrala statistički značajnom. T-vrijednost za zelenu salatu bila je 6,611, a P-vrijednost manja od 0,0001 pa se razlika smatrala statistički izrazito značajnom.

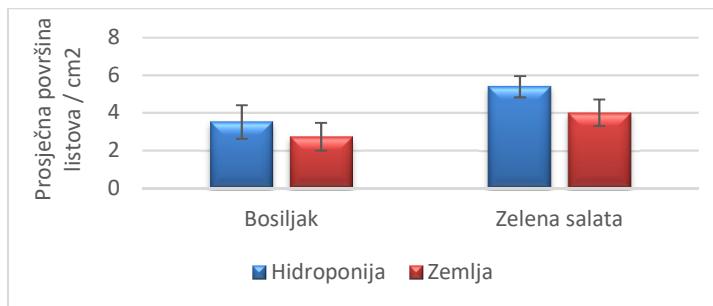
Iz slike 11 vidljivo je da je prosječan broj listova bosiljka u hidroponiji 21% veći, a zelene salate u hidroponiji 26% veći od onog u zemlji.



Slika 11 Prosječan broj listova za bosiljak i zelenu salatu ovisno o tipu uzgoja

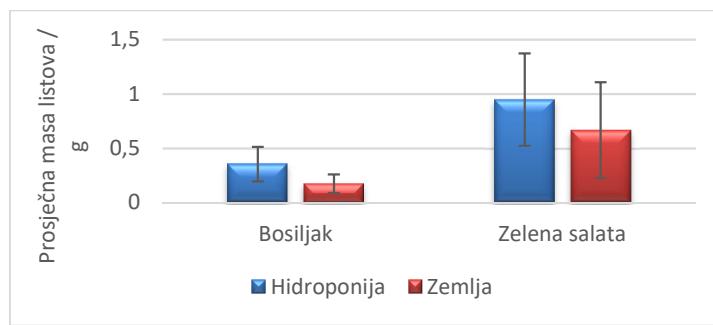
T-vrijednost za broj listova bosiljka je 3,037, a P-vrijednost je 0,0040. T-vrijednost za broj listova uzoraka zelene salate je 10,561 dok je P-vrijednost manja od 0,0001. Ove razlike se također smatraju statistički značajnima. Na slici 12 rezultati ukazuju na to da je prosječna površina listova bosiljka uzgojenog u hidroponiji za $0,78 \text{ cm}^2$, a zelene salate za $1,39 \text{ cm}^2$ veća od uzoraka uzgajanih u zemlji.

Na slici 12 rezultati su za površinu listova.



Slika 12 Prosječna površina listova za bosiljak i zelenu salatu ovisno o tipu uzgoja

Prosječna površina listova bosiljka uzgojenog u hidroponiji bila je za $0,78 \text{ cm}^2$, a zelene salate za $1,39 \text{ cm}^2$ veća od uzoraka uzgajanih u zemlji. T-vrijednost za površine listova bosiljka bila je 2,494, P-vrijednost bila je 0,0164, stoga je razlika smatrana statistički značajnom. T-vrijednost za površine listova zelene salate bila je 10,130, a P-vrijednost manja od 0,0001 te je razlika smatrana izrazito statistički značajnom. Slika 13 prikazuje rezultate za masu listova.



Slika 13 Prosječna masa listova za bosiljak i zelenu salatu ovisno o tipu uzgoja

Prosječna masa listova bila je dvostruko veća u bosiljku uzgajanom u hidroponiji u odnosu na prosječnu masu onih u zemlji, a u zelenoj salati 42% veća za hidroponski uzgoj. T-vrijednost za bosiljak bila je



3,330, P-vrijednost bila je 0,0018. Za zelenu salatu t-vrijednost bila je 2,995, a P-vrijednost 0,0036. Obje razlike smatrane su statistički vrlo značajnima.

RASPRAVA

Prije svega valja naglasiti kako je broj istraživanja na ovu temu za bosiljak i zelenu salatu oskudan te je stoga rezultate ovoga rada teško detaljno usporediti sa sličnim istraživačkim i stručnim radovima, ali je time i samo istraživanje vrijednije za znanstvenu zajednicu jer pruža nove informacije i spoznaje koje se mogu primijeniti u budućnosti.

U rezultatima je odmah moguće uočiti kako je udio klijavosti bosiljka u zemlji bio samo 26%. Razlog tomu može biti loša kvaliteta sjemena, s obzirom da se ni 12 tek iskljijalih sjemenki bosiljka u hidroponskom uzgoju nisu uopće nastavile dalje razvijati i odumrle su odmah nakon samog klijanja, stoga nisu ni uključene u konačna mjerena.

Analizom rezultata mjerena visine stabljike svake grupe uzorka utvrđeno je kako su, kroz 30 dana, biljke obiju vrsta u hidroponskom uzgoju na kraju imale višu stabljiku od onih u zemlji. Takvi rezultati u skladu su s istraživanjem Gashgarija i sur. (2018) gdje su stabljike krastavca u hidroponskom uzgoju bile značajno više od onih u zemlji. Ipak, na samom početku ovoga istraživanja, nakon 6 i 12 dana, čini se da su stabljike obiju vrsta biljaka u zemlji bile jednake ili više od onih u hidroponskom uzgoju. Uzrok tomu može biti manjak nutrijenata, s obzirom na to da je gnojivo dodano tek nakon ulaska u vegetativnu fazu više od 50% biljaka, a biljke u zemlji mogле су na početku crpiti dio potrebnih nutrijenata i hranjivih soli iz zemlje, stoga su se brže razvijale na samom početku.

Uočene su i značajne razlike u duljini korijena i razgranatosti korijena (broju korjenčića), gdje su obje vrste biljaka imale duži i razgranatiji korijen u hidroponskom uzgoju. Valja naglasiti manjkavost metode kod mjerena korijena u uzorcima uzbudjanim u zemlji jer je moglo doći do pucanja korijena tijekom odvajanja uzorka od zemlje, bez obzira što je u izvedbi taj dio pažljivo odrađen kako bi što manje utjecao na završne rezultate.

Nadalje, analizom rezultata broja, površine i mase listova uočena je statistički značajna razlika između uzgoja u hidroponiji i uzgoja u zemlji. Uzorci u hidroponskom uzgoju imali su veći broj, površinu i masu listova od uzorka u zemlji. Ovi rezultati ne slažu se s rezultatima Gashgari i sur. (2018) koji nisu uočili statistički značajnu razliku u duljini listova (koja je direktno proporcionalna površini) u odnosu na tip uzgoja. Štoviše, u ovom istraživanju prosječna masa listova bila je dvostruko veća u bosiljku u zemlji u odnosu na prosječnu masu onih u zemlji, a u zelenoj salati preko 40% veća za hidroponski uzgoj. Ovakvo odstupanje od spomenutih rezultata nije začuđujuće s obzirom na to da su čimbenici poput potpuno kontroliranog izvora i količine svjetlosti, konstantne temperature, precizno kontrolirane količine vode i nutrijenata mogli omogućiti potpuni razvoj i značajnu razliku u rastu biljaka u hidroponiji u ovom istraživanju, za razliku od spomenutog u kojem kontrolne varijable svjetlosti i temperatura zraka nisu uzete u obzir.

Treba napomenuti da je broj uspjelih biljaka bosiljka (16) u zemlji bio malen uzorak za stjecanje reprezentativnih podataka s pouzdanim rezultatima (bez velikih standardnih devijacija), no t-testom utvrđena je postojanost statistički značajne razlike između različitih metoda uzgoja. Međutim, iako je jasno kako su uzorci bosiljka u zemlji imali manju klijavost i rast od uzorka hidroponskog uzgoja, vjerodostojnost razlike između tih dviju grupa uzorka nije pouzdana zbog malog broja uzorka.



ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja mogu se donijeti sljedeći zaključci, za obje vrste biljaka, koji su u skladu s postavljenom hipotezom:

- ➊ hidroponski uzgoj značajno povećava udio i brzinu klijanja u odnosu na tradicionalni uzgoj u zemlji
- ➋ hidroponski uzgoj nakon 30 dana značajno utječe na visinu stabljike istraživanih biljaka u odnosu na tradicionalni uzgoj u zemlji
- ➌ hidroponski uzgoj značajno povećava prosječan broj, površinu i masu listova u odnosu na tradicionalni uzgoj u zemlji
- ➍ hidroponski uzgoj značajno povećava prosječnu duljinu korijena i broj korjenčića u odnosu na tradicionalni uzgoj u zemlji
- ➎ biljke imaju veću klijavost i rast u hidroponskom uzgoju u odnosu na tradicionalni uzgoj u zemlji.

LITERATURA

- Botanika, 2022. pH Perfect SensiGrow A+B. Botanika – Urbano Vrtlarstvo. <https://www.botanika.hr/gnojiva/advanced-nutrients-ph-perfect-sensi-grow>, pristupljeno 31.1.2022.
- Dougherty C. 2002. Statistical Tables. Oxford University Press: str. 2.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) 2014. Building a common vision for sustainable food and agriculture. FAO, Rim, str. 10-13.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) 2017. The future of food and agriculture: Trends and challenges. FAO, Rim, str. 11-16., 32-45.
- Gashgari R. 2018. Comparison between Growing Plants in Hydroponic System and Soil Based System. Department of Industrial Engineering, King Abdulaziz University, Saudi Arabia.
- Graph Pad 2022. t-test Calculator. <https://www.graphpad.com/quickcalcs/ttest1/?format=50> , pristupljeno 29.1.2022.
- Grujić Tomas N. 2019. Hidroponski uzgoj biljaka. Fakultet Agrobiotehničkih znanosti Osijek: završni rad.
- Henry J., Currey C., Owen W., Whipker B.E. 2018. Lettuce Nutritional Monitoring. Michigan State University Nutritional Monitoring Series.
- Kulkarni M., Street R.A., Van Staden J. 2007. Germination and seedling growth requirements for propagation of *Dioscorea dregeana* (Kunth) Dur. and Schinz — A tuberous medicinal plant. South African Journal of Botany 73: 131-137.
- Lošonski A. 2020. Morfološke karakteristike autohtonih sorti salate (*Lactuca sativa L.*). Fakultet Agrobiotehničkih znanosti Osijek: diplomski rad.
- Maurya A. 2017. Study of Hydroponic Systems And Their Variations. Trans Stellar: str. 548.
- Owen W., Cockson P., Henry J., Currey C., Whipker B.E. 2018. Basil Nutritional Monitoring. Michigan State University Nutritional Monitoring Series
- Silva J.A., Uchida R., 2000. Essential Nutrients for Plant Growth: Nutrient Functions and Deficiency Symptoms. Plant Nutrient Management. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa
- Trees.com 2022. The Kratky Method – Grow Food The Passive Hydroponic Way (Step by Step Guide). <https://www.trees.com/gardening-and-landscaping/the-gratky-method>, pristupljeno 26.1.2022.
- WWF 2020. Deforestation. World Wide Fund for Nature. https://wwf.panda.org/discover/our_focus/forests_practice/deforestation.causes2/, pristupljeno 30.1.2022.
- Zrile F. 2019. Suvremena prozvodnja I ljekovita svojstva bosiljka (*Ocimum basilicum L.*). Fakultet Agrobiotehničkih znanosti Osijek: diplomski rad



Primjena utjecaja sinestezije na poboljšanje kognitivnih sposobnosti učenika srednje škole

Nika Miličević, 3. razred

V. gimnazija, Zagreb

Mentor: Romana Halapir Franković

SAŽETAK

Početno istraživačko pitanje je bilo može li primjena neuropsihološkog fenomena sinestezije poboljšati kognitivne sposobnosti čovjeka i pomoći mu pri učenju. Glavni cilj istraživanja bio je ispitati postoji li statistički značajna razlika u rezultatima rješenih zadataka koji ispituju kognitivne sposobnosti između kontrolne i eksperimentalne skupine, od kojih eksperimentalna prije rješavanja izvodi vježbe za poticanje sinestezije. U istraživanju je sudjelovalo 200 učenika srednje škole: 100 učenika 1. i 100 učenika 3. razreda s jednakim omjerom mladića i djevojaka. Učenici su bili podijeljeni u kontrolne i eksperimentalne skupine te u odvojenim učionicama rješavali zadatke za ispitivanje pamćenja, koncentracije i vizualne percepциje. U prvom eksperimentu pamćenja ispitivalo se pomažu li boje u pamćenju brojevnog niza, u drugom pomažu li crtanje i jedenje Kiki bombona u traženju slova S u tekstu i u trećem eksperimentu pomažu li zvuk i dodir –igranje igrice *Music White Tiles* u spajanju grafema očima. Svaki eksperiment i vježbe za poticanje sinestezije trajali su po 60 sekundi. Pretpostavljeno je da će ispitanci eksperimentalne skupine, posebice viših razreda ostvariti statistički značajno bolje rezultate u zadacima kognitivnih sposobnosti, te da će djevojke 1. i 3. razreda eksperimentalne skupine ostvariti statistički značajno bolje rezultate u sva tri eksperimenta u odnosu na mladiće. Provedena je anketa o metodama koje ispitanci koriste pri učenju da se ispita koje su kombinacije stapanja osjeta najpopularnije. Obradom rezultata dvosmjernim t-testom ispostavilo se da razlike između skupina 1. razreda nisu, a između skupina 3. razreda jesu statistički značajne te da su djevojke 3. razreda u eksperimentima koncentracije i vizualne percepциje imale više rezultate od ostalih skupina. Utvrđeno je da je sinestezija pomogla učenicima 3. razreda pri rješavanju zadataka. Analiza ankete pokazala je da je korištenje motoričke metode pri učenju najpopularnija među učenicima.

Ključne riječi: osjeti, učenje pamćenje, koncentracija, percepacija

UVOD

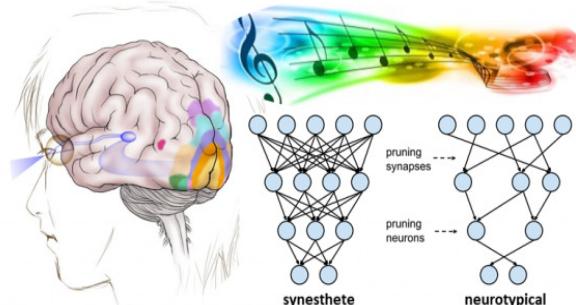
Sinestezija je neuropsihološki fenomen povezivanja dva ili više osjeta. Dolazi u različitim varijacijama, a među najučestalijima je grafem-boja sinestezija kod koje svako slovo i broj imaju određenu boju (tablica 1).

Tablica 1 Prikaz različitih vrsta sinestezija i njihove učestalosti (izvor: Whittingham K. 2007. Discover Synesthesia: Synesthesia types. <https://synesthesia.com.au/types-of-synesthesia/>, prevedeno i pristupljeno 15.3.2022.)

Vrsta sinestezije i učestalost		Vrsta sinestezije i učestalost		Vrsta sinestezije i učestalost	
grafemi -> boje	67%	zvuk -> okus	6%	vid -> miris	1%
vremenske cjeline -> boje	24%	bol -> boja	6%	orgazam -> boja	1%
glazbeni zvukovi -> boje	19%	osobnosti -> boje	6%	vid -> dodir	1%
obični zvukovi -> boje	15%	dodir -> boja	4%	osjećaj -> boja	1%
fonemi -> boje	10%	zvuk -> dodir	4%	miris -> dodir	1%
glazbene note -> boje	10%	temperatura -> boja	3%	miris -> zvuk	1%
mirisi -> boje	7%	vid -> okus	2%	zvuk -> pokret	1%
okusi -> boje	7%	vid -> zvuk	2%	zvuk -> temperatuta	1%
		zvuk -> okus	2%	okus -> dodir	1%

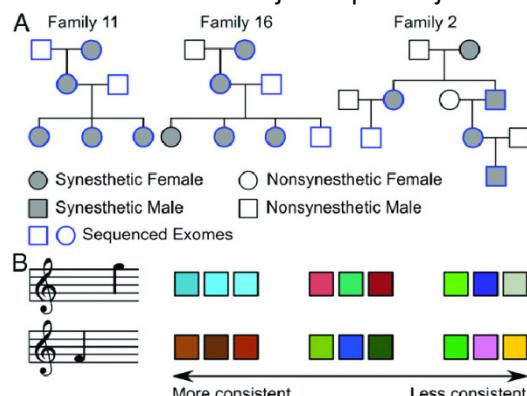
Ljude koji doživljavaju sinesteziju nazivamo sinestetima. Živčani impulsi iz podraženih osjetila putuju do određenih centara u kori velikog mozga, gdje nastaje osjetni doživljaj. Istraživanja su pokazala da su kod sinesteta različiti osjetni centri u kori velikog mozga povezani s više neuronskih veza – sinapsi, nego kod nesinesteta (slika 1). Kod sinesteta se živčani impuls pri putovanju ulaznog podražaja iz okoline

dijeli tako da podražuje dva ili više različitih moždanih osjetnih područja. Sinesteti su zato sposobni spojiti dva ili više osjeta u jednu cjelinu kojom „vide“ glazbu, „mirišu“ boje i slično.



Slika 1 Prikaz razlike umreženosti neurona kod sinesteta i nesinesteta (izvor: Maurer D. 24.4.2020. Why some people may hear colors. International Research Centers for Neurointelligence. <https://ircn.jp/en/pressrelease/20200422-hensch>, pristupljeno 15.3.2022.)

Sinestezije mogu biti uvjetovane genskim nasleđem, a postoji i više različitih vrsta sinestezija koje se razlikuju od pojedinca do pojedinca (slika 2). Vrste i kombinacije osjata ovise o dijelu mozga u kojem je aktiviran gen odgovoran za povećanu umreženost osjetnih područja u mozgu (Ramachandran, 2011).

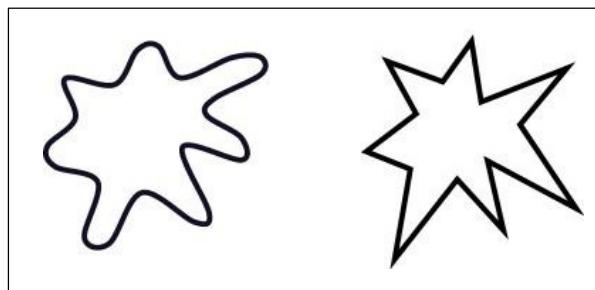


Slika 2 Prikaz rodoslovlja - nasleđivanje sinestezije (izvor: Tilot i sur. 2018. Rare variants in axonogenesis genes connect three families with sound-color synesthesia. Proceedings of the National Academy of Sciences; https://www.researchgate.net/publication/323567158_Rare_variants_in_axonogenesis_genes_connect_three_families_with_sound-color_synesthesia, pristupljeno 15.3.2022.)

Sinesteti „uključuju“ više osjata u percipiranje okoline, što im olakšava odgovaranje na vanjske podražaje i obavljanje kompleksnih zadataka. Upotrebom sinestezija, sinesteti su znatno unaprijedili svoje kognitivne sposobnosti: pamćenje, koncentraciju, rješavanje problema, obradu podataka i druge (Smees i sur., 2019). Saznanjima o vrijednostima sinestezije javlja se pitanje je li moguće da su samo sinesteti obdareni tim izvanrednim sposobnostima. V.S. Ramachandran i njegovi suradnici smatraju da su svi ljudi u određenim granicama sinesteti jer praktički svi ljudi interakcijom različitih osjata oblikuju svoja zapažanja o okolini, no te su interakcije kod sinesteta puno snažnije. Kao što je već spomenuto, to je upravo zbog većeg broja sinapsi između neuronskih sklopova (Ramachandran, 2011).

Poznati eksperiment Wolfganga Köhlera iz 1929. s dva oblika: jednim kružnim i jednim nazubljenim, pokazuje da su gotovo svi ispitanici kružni oblik povezali s riječi „bouba“, a nazubljeni s „kiki“ (slika 3). Razlog tomu je međusobna interakcija sluha i vida (Cuskley i sur, 2017). Kružni oblik oponaša vijugavost i zaobljenost zvuka „bouba“, dok „kiki“ daje potpuno suprotan učinak. Eksperiment u kojem su

ispitanici morali ocijeniti jačinu zvuka prije i nakon podraživanja kažiprsta blagom vibracijom za vrijeme slušanja pokazao je da su ispitanici zvuk ocijenili dvostruko jačim kada bi im se podražio kažiprst, iako taj čin nije sadržavao nikakve dodatne informacije o jačini zvuka (Eimer i Gillmeister, 2007). Ova dva eksperimenta pokazuju da su ispitanici većinom bili sposobni „stvoriti“ sinesteziju. Istraživanja sugeriraju da je otprilike jedna od 2000 osoba sinestet, a neki znanstvenici zaključili su da čak jedna od 300 osoba može imati neku varijaciju sinestezije. Od tog broja ima do šest puta više ženskih sinesteta nego muških (Simner i Carmichael, 2015).



Slika 3 Dva različita oblika, „kiki“ i „bouba“ efekt

(izvor: Sung-Ho. 2020. Bouba and Kiki inside objects: Sound-shape correspondence for objects with a hole. Cognition, Volume 195. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0010027719303063#>, pristupljeno 15.3.2022.)

Čovjek cijeli život uči kako savladati teškoće i rješavati probleme. On pamti i usvaja informacije zbog motivacije - težnje za ostvarivanjem ciljeva. Učenje je kompleksan proces na koji utječu mnogi čimbenici i distraktori, no neizbjegjan je i neophodan za razvoj pojedinca. Zato čovjek često smisljava načine na koje će efikasnije naučiti nešto. Primjerice, jedna od tehnika učenja srednjoškolaca je podcrtavanje važnih podataka i definicija u bilješkama. Riječi obilježene u boji vizualizirat će se i bolje upamtiti. Upravo su istovremene radnje čitanja i podcrtavanja teksta bojom okidači sinestezije. Na taj način aktiviramo i spajamo različite osjete kako bismo lakše i brže upamtili tekst. Već i iz ovog, za učenike, svakodnevног primjera može se naslutiti da se nesvesno i učestalo koristimo kombiniranjem osjeta pri komunikaciji s drugima, učenju novih vještina i percepciji okoline. Sukladno tome, svaki čovjek možda posjeduje prikrivene sposobnosti za razvoj i unaprjeđenje sinestezije. Poznato je i to da su mnogi nadareni umjetnici poput Liszta, Nabokova i Kandinskog imali jednu ili više vrsta sinestezije (Cytowic, 1989) koja je prema tome, osim što je ključna za poboljšanje učenja, nužna i za razumijevanje kreativnosti ljudi.

Ciljevi istraživanja su:

- ➊ utvrditi hoće li primjena različitih vrsta sinestezija unaprijediti obavljanje triju različitih zadataka vezanih uz pamćenje, koncentraciju i vizualnu percepciju
- ➋ usporediti učinke vježbi sinestezije kod učenika različite dobi: 1. i 3. razreda srednje škole
- ➌ usporediti učinke vježbi sinestezije kod djevojaka i mladića eksperimentalnih skupina
- ➍ ispitati kojom se, od u anketi ponuđenih tehnika koje potiču stapanje osjeta pri učenju, ispitanici najviše služe.

Glavna hipoteza ovog istraživanja je da će ispitanici eksperimentalne skupine i to posebice viših razreda, koji će prije rješavanja izvoditi vježbe za poticanje različitih vrsta sinestezija, imati statistički značajno bolje rezultate iz zadataka kognitivnih sposobnosti. Ta je prepostavka iznesena na temelju

zaključka Hartshornea i Germine (2015), autora istraživanja koje se bavilo proučavanjem promjenama inteligencije kako starimo. Tim je provodio istraživanje ispitanika u dobi od 10 do 90 godina: svi su rješavali zadatke testa *Digit Symbol Substitution* kojima se ispituje razvijenost različitih kognitivnih sposobnosti. Istraživanje je pokazalo da ukupna sposobnost obrade i memorije mozga dosežu vrhunac oko 18. godine života (Hartshorne i Germine, 2015). S time se poklapaju i istraživanja o promjenama u adolescenciji; razdoblju značajnih promjena u mozgu koje uz djelovanje hormona oblikuju način na koji ljudi misle (Spear, 2010). Razdoblje adolescencije može se okvirno podijeliti u tri faze: rana (od 11 do 13 godina), srednja (od 14 do 16 godina) i kasna adolescencija (od 17 do 21 godine) (Arnett, 2000). Ispitanici koji pohađaju 1. razred srednje škole imaju 14 i 15 godina i pripadaju u razdoblje srednje adolescencije, a ispitanici 3. razreda koji imaju između 17 i 18 godina pripadaju u razdoblje kasne adolescencije. Za srednju adolescenciju karakteristični su emocionalno sazrijevanje i povećana izloženost stresovima, primjerice prijelaz iz osnovne u srednju školu (Arnett, 1999). U srednjoj školi se od učenika očekuje više i postupno se kreću upoznavati s radnim navikama, stoga ubrzan razvoj kognitivnih sposobnosti za učenike 1. razreda tek slijedi. U kasnoj adolescenciji koja počinje od 17. godine, mlađi počinju dosezati maksimalni kapacitet iskorištavanja kognitivnih sposobnosti, jer tada neuronski aksoni koji međusobno povezuju određena područja mozga postaju jače izolirani mijelinom, bijelom, masnoćom obogaćenom tvari. Time se značajno povećava brzina prolaska električnog impulsa duž aksona, što ubrzava protok i razmjenu informacija među udaljenim regijama mozga. Iako mijelinizacija počinje rano u životu i nastavlja se u odrasloj dobi, njezina proizvodnja značajno eskalira tijekom adolescencije (Markham i Greenough, 2004).

Prepostavlja se da će statistička analiza dvosmjernim t-testom eksperimentalnih skupina u 1. i u 3. razredu pokazati statistički značajniju srednju vrijednost ostvarenih bodova kod djevojaka u sva tri eksperimenta sukladno zaključcima da je u prosjeku do šest puta više ženskih sinesteta nego muških (Barnett i sur, 2008). Ako postoji ekstremna ženska pristranost u sinesteziji, smatramo da će djevojke eksperimentalnih skupina 1. i 3. razreda korištenjem vježbi za poticanje stapanja osjeta imati statistički bolje rezultate od mlađica istih skupina. Uz navedeno, u istraživanjima koja ispituju veze unutar mozga otkriveno je da žene imaju bolje povezane polutke, odnosno jače veze među njima. Bolja "umreženost" kod žena rezultira boljim analiziranjem i donošenjem zaključaka u odnosu na muškarce (Association for Psychological Science. ScienceDaily. 2008.). Na taj je način kod djevojaka brža primjena svježe naučenog; prepostavljamo da će u ovom istraživanju rezultirati bržom primjenom vježbi za poticanje sinestezije i statistički boljom rješenošću eksperimenata.

Ljude po stilu njihovog učenja možemo podijeliti na vizualne, auditivne i motoričke tipove. Svaka od tih kategorija najviše se oslanja na jedan osjet: vid, sluh i dodir. Vizualnih tipova ima najviše, 65 %, auditivnih 30 % i motoričkih 5 % (Bušan, 2014). Budući da pretežno spadaju u vizualni tip učenja, prepostavljamo da će najveći postotak odgovora „Da“ u anketi dobiti pitanja „Podcrtavaš li markerima ključne riječi u bilješkama pri učenju?“ i „Izrađuješ li mentalne mape za učenje gradiva?“.

METODE RADA

Istraživanje je provedeno na 100 učenika (50 djevojaka i 50 mlađica) koji pohađaju 1. razred i 100 učenika (50 djevojaka i 50 mlađica) koji pohađaju 3. razred srednje škole. Polovica ispitanika svake od podskupina činila je ispitanike kontrolne skupine, a druga polovica ispitanike eksperimentalne, dakle

po 25 mladića i 25 djevojaka u svakoj skupini. Obje skupine imale su jednake zadatke. Ispitanici svakog razreda koji su sudjelovali u istraživanju na početku su bili nasumično podijeljeni na pripadnike kontrolne i eksperimentalne skupine. Skupine su bile smještene u zasebne učionice, tako da ispitanici sjede odvojeno jedni od drugih u zasebnim klupama da se izbjegnu prepisivanje i dekoncentracija.

Kako bi ispitanici znali u kakvom istraživanju sudjeluju, te bili više motivirani za sudjelovanje održano je uvodno predavanje na kojem im je objašnjeno što je sinestezija, istaknute zanimljivosti u primjeni i najučestaliji primjeri sinestezije.

Svi ispitanici sudjelovali su u tri eksperimenta koja su imala svrhu ispitati tri određene kognitivne sposobnosti: pamćenje, koncentraciju i vizualnu percepciju. Eksperimentalne skupine su prije rješavanja zadataka imale drugačije postavljene zadatke ili izvodile vježbe za poticanje interakcija među osjetima, odnosno poticanje određene vrste sinestezije koja im je trebala olakšati rješavanje triju glavnih zadataka ispitivanja kognitivnih sposobnosti. Vježbe za poticanje sinestezije samostalno su osmišljene. Svaki je eksperiment trajao 60 sekundi, kao i vježbe za poticanje sinestezije u eksperimentalnoj skupini. Davanje uputa ispitanicima i rješavanje svih triju zadataka trajalo je šest do sedam minuta jer su znanstvene procjene da je raspon koncentracije učenika najučinkovitiji unutar deset minuta (Wankat, 2002). Jednostavnost samih zadataka omogućavala je rješavanje u tom vremenu. Za ispitivanje svih 200 ispitanika bilo je potrebno ukupno pet dana.

U 1. eksperimentu, za ispitivanje pamćenja, ispitanici su dobili listić s brojevnim nizom od 35 znamenki. Zadatak je bio u 60 sekundi upamtiti što više znamenki i zatim ih u idućih 60 sekundi napisati na prazan list papira. Ispitanici kontrolne skupine dobili su brojevni niz otisnut crno-bijelim znamenkama (slika 4), a ispitanici eksperimentalne brojevni niz otisnut u šarenim bojama (slika 5) kako bi se ispitalo pomažu li boje u pamćenju grafema.

12356784960031948517692938072216456

Slika 4 Brojevni niz sa crno-bijelo otisnutim znamenkama za kontrolnu skupinu

12356784960031948517692938072216456

Slika 5 Brojevni niz sa šareno otisnutim znamenkama za eksperimentalnu skupinu

U 2. eksperimentu, koji je utvrđivao utjecaj sinestezije na koncentraciju, ispitanicima je bio dan odlomak iz lektire za srednju školu *Začuđeni svatovi*, Eugena Kumičića (slika 6). U tekstu su trebali pronaći i označiti sva, odnosno što više slova S u vremenu od 60 sekundi. U odlomku je ukupno 44 slova S, no to ispitanicima nije bilo rečeno kako im ne bi olakšalo zadatak.

U župnoj crkvi u Lučici čitaše stari župnik don Jure Ratković tihu misu, a odgovaraše mu zguren i slabašan starčić, zvonar Franina. Bijaše pred Božić. Silovit vihor, bijesna bura hujila je i cvljela oko crkve. Župnik i zvonar pogledavahu na stakla visokih prozora do oltara, kojima je vjetar drmalo i tresao. Bješe se već razdanilo. Blijedi plameni voštanica na oltaru drhtahu neprstance, leden zrak gibaše se malom crkvom, a vlažna studen dizaše se s popločena, izlizana tla. U crkvi ima i nekoliko rakva, a na njihovim pokrovima od kamena isklesane su mrtvačke glave i pod njima oduge kosti jakih zglobova. Te kosti prikazuju valjda mrtvačke ruke. Noge pobožnih Lučičana izlizale su i kamene pokrovce i isklesane glave i one kosti. K misi bješe došlo nekoliko žena, koje klečahu raštrkane u pocrnelim i bršljivim klupama. Podalje od žena u jednom kutu klečao je starac, zamotan u topao i odug zimski ogrtić. Visoki ovratnik kabanice, u koju se taj čovjek skoro sav zamotao, bio je uzdignut, te se je vidjelo samo tjeme sjedje mu glave. Bješe ju spustio na ruke, koje je položio na klupu preda se, turnuv jednu u široki rukav druge. Prošlo je bilo već nekoliko časova, što je malo zvono poklicalo na misu, župnik se bio već nekoliko puta okrenuo pred oltarom, a još bi po koja žena žurno u crkvu banula. Jedna starica ne zatvorila odmah za sobom vrata; studen udarac vjetra nahrupi u crkvu i ošinu čelavu i šiljatu glavu staroga zvonara.

Slika 6 Odlomak iz Začuđenih svatova sa svih 44 označenih slova S

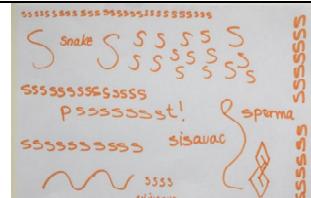
Ispitanici eksperimentalne skupine su prije rješavanja zadatka dobili listove papira i voćne Kiki bombone (slika 7). Bili su zamoljeni da na list papira nacrtaju ili napišu sve što ih osobno asocira na slovo S, a istovremeno su jeli gumene bombone. Očekivalo se da će eksperimentalna skupina pokazati veću razinu koncentracije za vrijeme traženja slova S u odlomku od ispitanika kontrolne skupine jer će ranije s izgledom slova povezati okus bombona i vlastite crteže i asocijacije na slovo S (slika 8 i slika 9).



Slika 7 Voćni Kiki bomboni koje su ispitanici eksperimentalne skupine jeli u eksperimentu koncentracije (vlastiti izvor)



Slika 8 Crteži i asocijacije ispitanika/ce eksperimentalne skupine na slovo S

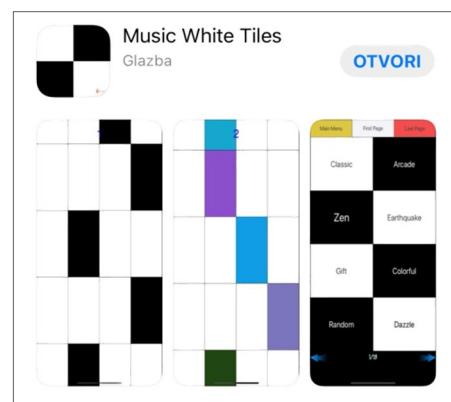


Slika 9 Crteži i asocijacije ispitanika/ce eksperimentalne skupine na slovo S

U 3. eksperimentu, za ispitivanje utjecaja sinestezije na vizualnu percepciju (sposobnost mozga da shvati ono što vidi), ispitanici su dobili listić na kojem je s jedne strane stupac brojeva, a na drugoj stupac pripadajućih slova (slika 10). Između brojeva i slova nalazi se deset vijugavih linija koje ih spajaju. Ispitanici su trebali očima pratiti linije bez uporabe olovke ili prstiju te sa strane napisati koji broj vodi do kojeg slova u vremenu od 120 sekundi.



Slika 10 Zadatak za ispitivanje vizualne percepcije (vlastiti izvor)



Slika 11 Igrica koju su ispitanici eksperimentalne skupine igrali prije 3. eksperimenta (vlastiti izvor)

Ispitanici eksperimentalne skupine su neposredno prije obavljanja zadatka igrali igricu *Music White Tiles* (slika 11). To je igra u kojoj je cilj igrača dodirnuti crne pločice koje padaju s vrha zaslona, a

izbjegavati bijele. Kada se klikne na crnu pločicu, emitira se zvuk tipke klavira. Tako su ispitanici eksperimentalne skupine dodirivanjem pločica koje se pomiču u igri mogli odsvirati jednu od ponuđenih klavirske skladbi i povezati zvuk s pokretom.

Vrijeme za rješavanje svih zadataka bilo je praćeno štopericom mobitela postavljenom tako da zvoni nakon 60 sekundi.

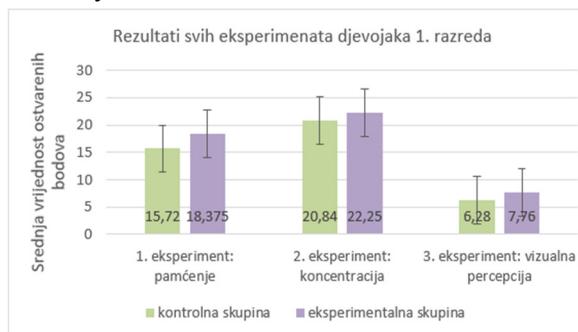
Ispitanicima je nakon provedenih eksperimenta bila podijeljena anketa za ispitivanje pomoćnih sinestetskih metoda kojima se koriste pri učenju gradiva (prilog 2). Anketa je napravljena u digitalnom alatu *Google Forms*.

Za utvrđivanje jesu li razlike u točnosti rješavanja zadatka između pojedinih kontrolnih i eksperimentalnih skupina, između skupina prema dobi te između spolova statističke značajne, korišten je dvosmjerni statistički t-test u programu *Excel*. T-testom su obrađeni i uspoređeni rezultati ostvarenih brojeva bodova u rješavanju zadataka kognitivnih sposobnosti između kontrolnih i eksperimentalnih skupina. Rezultati obrađeni dvosmjernim t-testom proglašavaju se statistički značajnim ako su dobivene p-vrijednosti manje ili jednake vrijednosti 0,05 (zeleno obojane ćelije u tablicama). Dvosmjerni t-test (Snedecor i Cochran, 1989.) primjenjujemo kada ispitujemo je li novi proces ili tretman (u slučaju ovog istraživanja, primjena sinestezije pri rješavanju zadataka) bolji od trenutnog procesa ili tretmana (omogućava ostvarivanje viših rezultata pri rješavanju zadataka koji ispituju kognitivne sposobnosti).

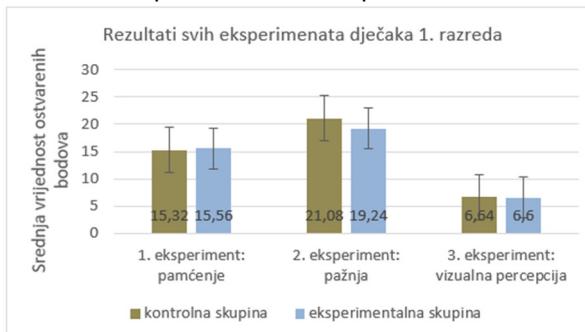
REZULTATI

Prosječni rezultati brojeva bodova svih triju eksperimenata koji su ispitivali kognitivne sposobnosti ispitanika 1. i 3. razreda prikazani su grafovima.

Na slici 12 prikazani su rezultati eksperimenata djevojaka 1. razreda. U sva tri eksperimenta djevojke eksperimentalne skupine rješile su zadatke uspješnije nego djevojke kontrolne skupine. Na slici 13 prikazani su rezultati eksperimenata mladića 1. razreda. Vidljivo je da ni u jednom eksperimentu nije bilo bitnijih razlika u ostvarenosti bodova između kontrolne i eksperimentalne skupine.

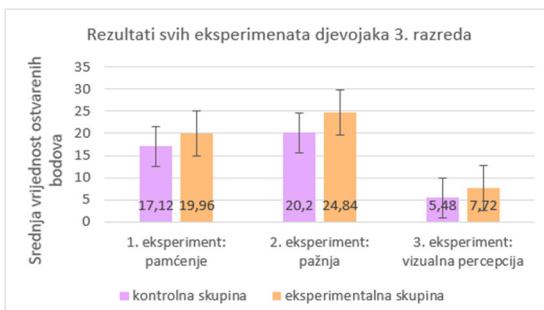


Slika 12 Prikaz srednjih vrijednosti ostvarenih bodova i standardnih devijacija bodova djevojaka 1. razreda u sva tri eksperimenta

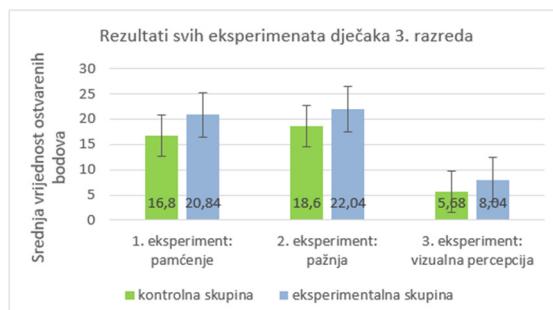


Slika 13 Prikaz srednjih vrijednosti ostvarenih bodova i standardnih devijacija bodova mladića 1. razreda u sva tri eksperimenta

U sva tri eksperimenta djevojaka 3. razreda djevojke eksperimentalne skupine ostvarile su veći broj bodova (slika 14). U sva tri eksperimenta mladića 3. razreda mladići eksperimentalne skupine ostvarili su veći broj bodova (slika 15).



Slika 14 Prikaz srednjih vrijednost ostvarenih bodova i standardnih devijacija bodova djevojaka 3. razreda u sva tri eksperimenta



Slika 15 Prikaz srednja vrijednost ostvarenih bodova i standardnih devijacija bodova mladića 3. razreda u sva tri eksperimenta

Unutar 1. i 2. eksperimenta rezultati eksperimentalne skupine djevojaka 1. razreda nisu bili statistički značajni (narančasto označeno u tablici), no u 3. eksperimentu spajanja slova i brojeva, bolji rezultati eksperimentalne skupine statistički su značajni (zeleno označeno u tablici) (tablica 2).

Tablica 2 Usporedba rezultata djevojaka kontrolne i eksperimentalne skupine 1. razreda pomoću t-testa

T-test: djevojke 1.razreda						
Eksperiment	1. pamčenje brojevnog niza		2. traženje slova S		3. spajanje slova i brojeva	
Skupina	kontrolna	eksperimentalna	kontrolna	eksperimentalna	kontrolna	eksperimentalna
Srednja vrijednost	15,72	18,375	20,84	22,25	6,28	7,76
Varijacija	53,96	14,06771	22,80667	30,2708	2,96	3,606667
P(T<=t) dva-smjera	0,116241959		0,338155224		0,005803268	
t kritično dva-smjera	2,028094001		2,011740514		2,010634758	

U skupini mladića 1. razreda između kontrolnih i eksperimentalnih skupina nema statistički značajne razlike (narančasto označeno redovi) ni u jednom eksperimentu rješavanja zadatka kognitivnih sposobnosti (tablica 3).

Tablica 3 Usporedba rezultata mladića kontrolne i eksperimentalne skupine 1. razreda pomoću t-testa

T-test: mladići 1.razreda						
Eksperiment	1. pamčenje brojevnog niza		2. traženje slova S		3. spajanje slova i brojeva	
Skupina	kontrolna	eksperimentalna	kontrolna	eksperimentalna	kontrolna	eksperimentalna
Srednja vrijednost	15,32	15,56	21,08	19,24	6,64	6,6
Varijacija	22,64333	23,34	23,91	21,19	2,073333	6,083333
P(T<=t) dva-smjera	0,86028252		0,177081958		0,944528982	
t kritično dva-smjera	2,010634758		2,010634758		2,02269092	

T- test je pokazao da su razlike u 3. razredu između kontrolne i eksperimentalne skupine djevojaka statistički značajne u sva tri provedena eksperimenta (zeleno obojani redovi u tablicama) (tablica 4).

Tablica 4 Usporedba rezultata djevojaka kontrolne i eksperimentalne skupine 3. razreda pomoću t-testa

T-test: djevojke 3. razreda						
Eksperiment	1. pamčenje brojevnog niza		2. traženje slova S		3. spajanje slova i brojeva	
Skupina	kontrolna	eksperimentalna	kontrolna	eksperimentalna	kontrolna	eksperimentalna
Srednja vrijednost	17,12	19,96	20,2	24,84	5,48	7,72
Varijacija	18,19333	30,62333	24,41667	35,97333	3,093333	2,21
P(T<=t) dva-smjera	0,048042481		0,004525272		0,000013328	
t kritično dva-smjera	2,014103389		2,012895599		2,011740514	

T- test je pokazao da su razlike u 3. razredu između kontrolne i eksperimentalne skupine mladića također statistički značajne u sva tri provedena eksperimenta (zeleno obojani redovi u tablicama) (tablica 5).

Tablica 5 Usporedba rezultata mladića kontrolne i eksperimentalne skupine 3. razreda pomoću t-testa

T-test: mladići 3.razreda						
Eksperiment	1. pamćenje brojevnog niza		2. traženje slova S		3. spajanje slova i brojeva	
Skupina	kontrolna	eksperimentalna	kontrolna	eksperimentalna	kontrolna	eksperimentalna
Srednja vrijednost	16,8	20,84	18,6	22,04	5,68	8,04
Varijacija	38,91667	32,05667	19,58333	23,37333	4,393333	2,29
P ($T \leq t$) dva-smjera	0,020434354		0,011608936		0,000040036	
t kritično dva-smjera	2,010634758		2,010634758		2,015367574	

Tablica 6 prikazuje statističku usporedbu srednjih vrijednosti ostvarenih bodova u sva tri eksperimenta mladića 1. i 3. razreda srednje škole eksperimentalne skupine. Razlike su statistički značajne u sva tri eksperimenta (zeleno osjenčane P-vrijednosti).

Tablica 6 Usporedba rezultata mladića 1. i 3. razreda eksperimentalne skupine pomoću t-testa

T-test: mladići eksperimentalnih skupina						
Eksperiment	1. pamćenje brojevnog niza		2. traženje slova S		3. spajanje slova i brojeva	
Razred	1.	3.	1.	3.	1.	3.
Srednja vrijednost	15,56	20,84	19,24	22,04	6,6	8,04
P($T \leq t$) dva-smjera	0,000895294		0,04126825		0,01710414	

Tablica 7 prikazuje statističku usporedbu srednjih vrijednosti ostvarenih bodova u sva tri eksperimenta djevojaka 1. i 3. razreda srednje škole eksperimentalne skupine. T-test je pokazao da razlike nisu statistički značajne (crveno osjenčane P-vrijednosti).

Tablica 7 Usporedba rezultata djevojaka 1. i 3. razreda eksperimentalne skupine pomoću t-testa

T-test: djevojke eksperimentalnih skupina						
Eksperiment	1. pamćenje brojevnog niza		2. traženje slova S		3. spajanje slova i brojeva	
Razred	1.	3.	1.	3.	1.	3.
Srednja vrijednost	18,375	19,96	22,25	24,84	7,76	7,72
P($T \leq t$) dva-smjera	0,242497324		0,118153641		0,934277835	

Tablica 8 prikazuje statističku usporedbu srednjih vrijednosti ostvarenih bodova u sva tri eksperimenta mladića i djevojaka 1. razreda srednje škole eksperimentalne skupine. T-test je pokazao da su razlike statistički značajne u prva dva eksperimenta (zeleno osjenčane P-vrijednosti) i da nisu u trećem eksperimentu (crveno osjenčane P-vrijednosti).

Tablica 8 Usporedba rezultata djevojaka i mladića 1. razreda eksperimentalne skupine pomoću t-testa

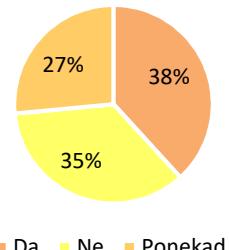
T-test: ispitanici eksperimentalnih skupina 1.razreda						
Eksperiment	1. pamćenje brojevnog niza		2. traženje slova S		3. spajanje slova i brojeva	
Spol	M	Ž	M	Ž	M	Ž
Srednja vrijednost	15,56	18,375	19,24	22,25	6,6	7,76
P($T \leq t$) dva-smjera	0,026061984		0,041311251		0,068964327	

Tablica 9 prikazuje statističku usporedbu srednjih vrijednosti ostvarenih bodova u sva tri eksperimenta mladića i djevojaka 3. razreda srednje škole eksperimentalne skupine. T-test je pokazao da razlike nisu statistički značajne (crveno osjenčane P-vrijednosti).

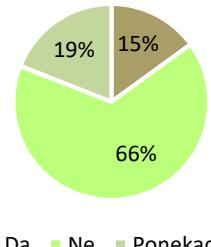
Tablica 9 Usporedba rezultata djevojaka i mladića 3. razreda eksperimentalne skupine pomoću t-testa

T-test: ispitanici eksperimentalnih skupina 3.razreda						
Eksperiment	1. pamćenje brojevnog niza		2. traženje slova S		3. spajanje slova i brojeva	
Spol	M	Ž	M	Ž	M	Ž
Srednja vrijednost	20,84	19,96	22,04	24,84	8,04	7,72
P($T \leq t$) dva-smjera	0,580955532		0,075686401		0,454385256	

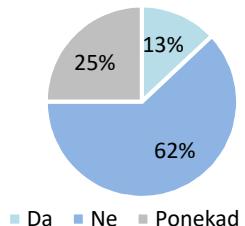
Rezultati ankete za ispitivanje pomoćnih sinestetskih metoda kojima se ispitanici koriste pri učenju gradiva (prilog 2) prikazani su tortnim grafovima.



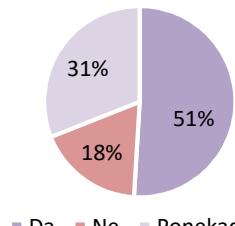
Slika 16 Prikaz odgovora na prvo pitanje u anketi:
Podcrtavaš li markerima ključne riječi u bilješkama pri
učenju?



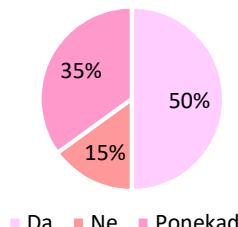
Slika 17 Prikaz odgovora na drugo pitanje u anketi:
Žvačeš li žvakaču gumu dok učиш?



Slika 18 Prikaz odgovora na treće pitanje u anketi:
Izrađuješ li mentalne mape za učenje gradiva?



Slika 19 Prikaz odgovora na četvrto pitanje u anketi:
Koristiš li se rukama pri memoriziranju, npr.
nabrajaš pojmove na prste, igraš se lopticom...?



Slika 20 Prikaz odgovora na peto pitanje u anketi: Čitaš li odlomke iz knjige naglas dok učиш?

RASPRAVA

Glavna hipoteza ovog istraživanja da će ispitanici eksperimentalne skupine viših razreda (tablice 4 i 5), koji će prije rješavanja izvoditi vježbe za poticanje različitih vrsta sinestezija, imati statistički značajno bolje rezultate iz zadatka kognitivnih sposobnosti je potvrđena. Prema njoj su potvrđeni zaključci da je ukupna sposobnost obrade i memorije mozga uglavnom najbolja u 18. godini (Hartshorne i Germine, 2015). Ispitanici eksperimentalne skupine 1. razreda nisu ostvarili statistički značajno bolje rezultate u eksperimentima, uz iznimku eksperimenta vizualne percepcije kod djevojaka 1. razreda (tablica 3). To bi mogli objasniti zaključci o promjenama u adolescenciji koje uzrokuju određena ponašanja karakteristična za svaku njenu fazu (Arnett, 2000): ispitanici 1. razreda sa svojih 14 i 15 godina tek kreću intenzivnije razvijati svoje kognitivne vještine s dolaskom u srednju školu (Arnett, 2000). Možda zbog nedovoljno razvijenih vještina ili straha pri sudjelovanju u istraživanju pri rješavanju zadatka nisu mogli dovoljno brzo i efektivno spojiti različita iskustva osjeta kako bi im pomogla. Djevojke 1. razreda eksperimentalne skupine su u trećem eksperimentu vizualne percepcije to ipak učinile uspješno i

ostvarile statistički značajno veći prosječni broj bodova od kontrolne skupine: možda zbog veće motivacije i opuštenosti pri rješavanju.

Hipoteza da će ispitanici i ispitanice 3. razreda imati statistički značajno veći broj prosječno ostvarenih bodova u sva tri eksperimenta u odnosu na ispitanike i ispitanice 1. razreda, potvrđena je kod mladića (tablica 6), ali ne i kod djevojaka (tablica 7). To bi se možda moglo objasniti činjenicom da djevojke sazrijevaju brže od dječaka, a mozak djevojčica je čak dvije godine ispred tijekom puberteta. Neuro-imaging (funkcijska metoda oslikavanja mozga) pokazuje da, u ranoj fazi, tipična tinejdžerka ima jaču vezu između područja mozga koja kontroliraju impulse - amigdalu - i prosuđivanje - prefrontalni korteks (Brizendine, 2006). Stoga mladići, koji sazrijevaju mnogo sporije ostvaruju značajniju razliku u razvoju kognicije kada su stariji, u odnosu na mlađe ispitanike.

Statistički značajnim veće srednje vrijednosti ostvarenih bodova u odnosu na mladiće u eksperimentu pamćenja i koncentracije imale su djevojke 1. razreda (tablica 8), što se poklapa s postavljenom hipotezom i istraživanjima o boljoj umreženosti polutki ženskog mozga koje rezultiraju bržom primjenom naučenog (Association for Psychological Science, ScienceDaily, 2008). Suprotno tome, djevojke 1. razreda u eksperimentu vizualne percepcije nisu se pokazale statistički uspješnijima u odnosu na mladiće, kao ni djevojke 3. razreda ni u jednom od triju eksperimenta (tablica 9). Iako mnogo istraživanja zaključuje da je broj ženskih sinesteta značajno veći od muških (Bennett, 2008), istraživanje Simner i Carmichael (2015) pokazalo je suprotno detaljnijim i većim testiranjem. Od 54 sinesteta, 33 su bile žene, a 21 muškarci. Izračunavanje ukupne prevalencije sinestezije u boji grafema za svaki spol zasebno, uzimajući u obzir ukupan broj testiranih muškaraca i žena (2135 i 1758) dalo je prevalenciju žena od 1,55% i prevalenciju muškaraca od 1,19%, što rezultiralo statistički neznačajnom razlikom žensko - muškog omjera 1,3 : 1. Zaključili su da sinestezija nije dominantna ni za koji spol, odnosno superiorno ženski fenomen (Bennett i Carmichael, 2013). I u našem je istraživanju za sve djevojke 3. razreda i djevojke 1. u eksperimentu vizualne percepcije, dakle većinu, vidljivo da nema statistički značajne razlike u prisvajanju sinestezije u odnosu na mladiće. Napominjemo da bi za tu skupinu bilo dobro još jednom provesti eksperiment na većem uzorku ispitanica u budućnosti, za dobivanje detaljnijih i sigurnijih rezultata.

Najpopularnija metoda učenja kod učenika srednje škole bila je memorizacija pojmove uz pomoć nabranja ruku-pretežno motorički tip učenja (slika 19), što se ne poklapa s hipotezom da će pretežno vizualni tipovi učenja kao što su izrađivanje mentalnih mapa i podcrtavanje bilješki markerima biti najkorištenije metode među učenicima. Smatramo da izrađivanje mentalne mape vjerojatno nije popularna metoda pri učenju jer ispisivanje pojmove, crtanje i bojanje jedne mape učenicima oduzimaju puno vremena. Podcrtavanje bilješki markerima pri učenju moglo bi biti manje popularna metoda od očekivanog jer se od pandemije korona virusa i on-line oblika nastave populariziralo korištenje digitalnih nastavnih materijala i aplikacija za učenje, koje ne zahtijevaju vađenje samostalnih bilješki (Tonković i sur., 2020). Također uočavamo da anketa u istraživanju nije bila dovoljno detaljno postavljena jer svaka od metoda ponuđenih u anketi predstavlja kombinaciju dvaju ili više tipova: čitanje naglas kombinacija je vizualnog i auditivnog, a nabranje pojmove na ruke kombinacija motoričkog i vizualnog i/ili auditivnog (ukoliko ispitanik pročita pojam i ponovi ga naglas da ga bolje upamti). Ljudi mogu kombinirati vrste učenja: ne postoji isključivo jedan od triju tipa kojemu pripadaju.

Kombinacijom i uključivanjem više različitih osjeta u obavljanje jedne radnje – učenja, obavljamo tu radnju efektivnije i bolje ju pamtimo. Učenje se odvija u trenu kada je um u stanju sastaviti informacije iz svih osjetila i uspostaviti vezu s prijašnjim saznanjima. Korištenje mnogo osjetila odjednom za dobivanje informacija pomaže u učenju da bude smislenije i korisnije, što primjerice, djeca rade automatski od najranije dobi (Watson i sur., 2014).

Napominjemo da je sinestezija još uvijek nedovoljno definirana jer postoji mnogo individualnosti i subjektivnosti u fenomenu (Leeuwen, 2013). Naime, dvije osobe koje posjeduju sinesteziju iste vrste, primjerice grafem-boja sinesteziju, ne moraju imati jednaku percepciju slova A: jedna osoba A može vidjeti u crvenoj, a druga u plavoj boji. Individualnost fenomena je njegova posebnost, ali ujedno i nedostatak za potpuno razumijevanje. Primjerice, mi smo u našem prvom eksperimentu pamćenja obojali znamenke u specifične boje koje nekim ispitanicima možda nisu "odgovarale" jer bi ih oni osobno obojali drugačije i na taj način lakše zapamtili. Također se smatra da su učenici koji su inače kreativniji i vještiji u stvaranju asocijacija i povezivanju različitih elemenata, skloniji prisvojiti i koristiti metode koje potiču sinestezije pri učenju (Watson i sur., 2014). Treba uzeti u obzir i ostale okolnosti pojedinačnih ispitanika. Svi su učenici prema svojim skupinama bili smješteni u praznu učionicu i odvojene klupe kako bi se izbjegla dekoncentracija, no mogući faktori koji su utjecali na njihove krajnje rezultate mogli su biti raznoliki, primjerice umor, nedostatak motivacije, temperatura u učionici i slično.

Rezultati učenika 3. razreda eksperimentalne skupine kojima je spajanje različitih osjeta pomoglo pri rješavanju zadataka sugeriraju na mogućnosti koje razmatraju zaključci drugih istraživanja (Brang i sur., 2010): da nesinestetske osobe mogu imati iskustva koja nalikuju na određene sinestezije nakon treninga tijekom dovoljno dugog vremenskog razdoblja. Važno je napomenuti da nesinesteti nikada neće moći postati sinesteti jer su za neuropsihološki fenomen sinesteziju zaslužni geni i pojava neuroplastičnosti – sposobnosti neurona da se mijenjaju u ranoj životnoj dobi (Brang i sur., 2010). Smatramo da bi i učenicima 1. razreda vježbe stapanja osjeta donijele bolje rezultate u rješavanju zadataka koji ispituju kognitivne sposobnosti uz dulji trening jer im, kao skupini koja je u srednjoj fazi adolescencije, vjerojatno treba više vremena da se prilagode na zadane zadatke (Arnett, 1999), što bi mogao biti prijedlog za detaljniju provedbu ovog istraživanja u budućnosti. U nastavku bismo također željeli ispitati postigu li učenici koji su sinesteti bolje rezultate na ispitima znanja te kako oblici ispita utječu na uspješnost primjene sinestezije.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja mogu se donijeti slijedeći zaključci:

- ➊ Razlike u rezultatima 1. razreda između ispitanika kontrolne i eksperimentalne skupine u sva tri eksperimenta, koji ispituju kognitivne sposobnosti, nisu se pokazale statistički značajnim osim u trećem eksperimentu vizualne percepcije kod skupine djevojaka 1. razreda, najvjerojatnije zbog izraženije opuštenosti i motivacije pri radu
- ➋ Primjena različitih vrsta sinestezija statistički je značajno unaprijedila obavljanje triju različitih zadatka vezanih uz pamćenje, koncentraciju i vizualnu percepciju kod učenika starije dobi.
- ➌ Mladići eksperimentalne skupine 3. razreda ostvarili su statički značajno veće prosječne bodove bodova u svim eksperimentima u odnosu na 1. razred, dok djevojke 3. razreda nisu

- ➊ Djekoje eksperimentalne skupine 1. razreda srednje škole ostvarile su statistički značajnije rezultate u eksperimentima koncentracije i vizualne percepcije u odnosu na eksperimentalnu skupinu mladića 1. razreda, ali bodovna razlika nije bila statistički značajna kod eksperimenta vizualne percepcije djevojaka 1. razreda i svih triju eksperimenata djevojaka 3. razreda u usporedbi s njihovim vršnjacima
- ➋ Metoda koju ispitanici pri učenju najviše koriste je korištenje ruku pri memorizaciji pojmoveva.

LITERATURA

- Arnett, J.J. 1999. Adolescent Storm and Stress, Reconsidered. *American Psychologist*, 54, (5) 317-326.
- Arnett, J.J. 2000. Emerging adulthood: A theory of development from the late teens through the twenties. *American Psychologist*, 55 (5), 469-480.
- Association for Psychological Science. Sex Differences In Memory: Women Better Than Men At Remembering Everyday Events. *ScienceDaily*. *ScienceDaily*, 21.2. 2008.
<https://www.sciencedaily.com/releases/2008/02/080220104244.htm>, pristupljeno 15.3.2022.
- Barnett K., Newell F. N., Finucane C., Asher J. E., Corvin A. P., Mitchell K. J. Familial patterns and the origins of individual differences in synesthesia. *Cortex*. 2008;106:871–893. Simner J., Carmichael DA. Is synesthesia a dominantly female trait?. *Cogn Neurosci*. 2015;6(2-3):68-76. doi:10.1080/17588928.2015.1019441
- Brang D., Hubbard E.M., Coulson S., Huang M., Ramachandran V.S. 2010. Magnetoencephalography reveals early activation of V4 in grapheme-color synesthesia. *Neuroimage*.
- Brizendine, L. (2006). *The female brain*. New York: Morgan Road Books.
- Bušan A.M. 2014. Learning styles of medical students - implications in education. *Curr Health Sci J*.
- Cuskley C., Simner J., Kirby S. 2017. Phonological and orthographic influences in the bouba-kiki effect. *PsycholRes*.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26403463/>, pristupljeno 23.10.2021.
- Cytowic R.E. 1993. Synesthesia: A Union of the Senses. Springer Verlag, New York.
- Gillmeister H., Eimer M. 2007. Tactile enhancement of auditory detection and perceived loudness. *BrainRes*.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17573048/>, pristupljeno 23.10.2021.
- Hartshorne J.K., Germine L.T. 2015. When does cognitive functioning peak? The asynchronous rise and fall of different cognitive abilities across the life span. *Psychol Sci..*
- Lacković-Grgin K. 2006. Psihologija adolescencije. Jastrebarsko: Naklada Slap.
- Leeuwen T.M. 2013. Individual Differences in Synesthesia. Oxford Handbook of Synesthesia
<https://www.oxfordhandbooks.com/view/10.1093/oxfordhb/9780199603329.001.0001/oxfordhb-9780199603329-e-013>, pristupljeno 25.4.2022.
- Markham J.A., Greenough W.T. 2004. Experience-driven brain plasticity: beyond the synapse. *Neuron Glia Biology*.
- Ramachandran V.S. 2011. The Tell-Tale Brain: A Neuroscientist's Quest for What Makes Us Human. TIM press, Zagreb, 2013.
- Simner J., Carmichael D.A. 2015. Is synesthesia a dominantly female trait?. *CognNeurosci*.
- Smees R., Hughes J., Carmichael D.A., Simner J. 2019. Learning in colour: children with grapheme-colour synesthesia show cognitive benefits in vocabulary and self-evaluated reading. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*.
- Smilek D., Dixon M. J., Cudahy C., Merikle P.M. 2002. Synesthetic color experiences influence memory. *Psychol. Sci.* 13.
- Snedecor G.W., Cochran W.G. 1989. Statistical Methods. 8th Edition, Iowa State University Press, Ames.
- Spear L. 2010. The behavioral neuroscience of adolescence. Norton; New York.
- Sung-Ho K. 2020. Bouba and Kiki inside objects: Sound-shape correspondence for objects with a hole. *Cognition*, Volume 195. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010027719303063#>, pristupljeno 15.3.2022.
- Tilot A. i sur. 2018. Rare variants in axonogenesis genes connect three families with sound-color synesthesia.
https://www.researchgate.net/figure/Sound-color-synesthesia-in-three-multiplex-families-from-the-Cambridge-Synesthesia-fig1_323567158, pristupljeno 15.3.2022.
- Tonković, A., Pongračić, L. i Vrsalović, P. (2020). Djelovanje pandemije Covid-19 na obrazovanje diljem svijeta. *Časopis za odgojne i obrazovne znanosti Foo2rama*, 4 (4), 121-134. <https://hrcak.srce.hr/251672>, pristupljeno 27.4.2022.
- Wankat P.C. 2002. *The Effective, Efficient Professor — Teaching, Scholarship and Service* Boston, MA. Allyn and Bacon.
- Ward J., Thompson-Lake D., Ely R., Kaminski F. 2008. Synesthesia, creativity and art: what is the link? *Br. J. Psychol.* 99, 127–141.
- Whittingham K. 2007. Synesthesia types. <https://synesthesia.com.au/types-of-synesthesia/>, prevedeno i pristupljeno 15.3.2022.

**PRILOZI****Prilog 1 Anketa o korištenju sinestezije pri učenju**

1. Podcrtavaš li markerima ključne riječi u bilješkama pri učenju?
 - a. Da
 - b. Ne
 - c. Ponekad

2. Žvačeš li žvakaču gumu dok učiš?
 - a. Da
 - b. Ne
 - c. Ponekad

3. Izrađuješ li mentalne mape za učenje gradiva?
 - a. Da
 - b. Ne
 - c. Ponekad

4. Koristiš li se rukama pri memoriziranju, npr. nabrajaš pojmove na prste, igraš se lopticom...?
 - a. Da
 - b. Ne
 - c. Ponekad

5. Čitaš li odlomke iz knjige naglas dok učiš?
 - a. Da
 - b. Ne
 - c. Ponekad



Utjecaj prirodnih biostimulatora na obični grah (*Phaseolus vulgaris*) u uvjetima povišenog saliniteta

Maritea Arelić, 4. razred

Gimnazija Andrije Mohorovičića, Rijeka

Mentor: Emica Pandurić

SAŽETAK

Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj vlastito i kućno pripravljenih prirodnih biostimulatora na obični grah (*Phaseolus vulgaris*) u uvjetima povišenog saliniteta, utvrditi jesu li oni učinkoviti u pružanju otpornosti običnom grahu na stres saliniteta te postoji li razlika u rezultatu njihove primjene i primjene onih komercijalno nabavljenih. Vlastito su izrađeni: ekstrakt lista konjske rotkvice, ekstrakt korijena sladića te ekstrakt češnjaka. Ekstrakt korijena sladića također je i komercijalno nabavljen kako bi se usporedila njegova djelotvornost s onim vlastito izrađenim. 4 eksperimentalne skupine činile su skupine sjemenki običnog graha koje su puštene su da se namaču u navedenim ekstraktima tijekom 4 sata (svaka eksperimentalna skupina namakana je u zasebnom ekstraktu), a kontrolnu skupinu činile su sjemenke koje su se 4 sata namakale u vodovodnoj vodi. Nakon toga, sjemenke su postavljene na slanu podlogu za klijanje (vatu u posudicama koja je prethodno natopljena otopinom koncentracije 100mM NaCl). Sjemenke su na toj podlozi ostavljene 15 dana, nakon čega su mjerene zavisne varijable: broj prokljajih sjemenki, duljina stabljika i površina listova prokljajih jedinki graha te odnos količine klorofila u prokljajim jedinkama. Rezultati su pokazali da vlastito i kućno izrađeni biostimulatori pospješuju klijavost, duljinu stabljike, površinu listova i količinu klorofila običnog graha u uvjetima povišenog saliniteta (sjemenke tretirane biostimulatorima imale su veći postotak klijavosti te statistički značajnu veću duljinu stabljike, površinu listova i količinu klorofila od onih netretiranih biostimulatorima). Komercijalno nabavljeni ekstrakt korijena sladića pokazao je uspješniju djelotvornost od onog vlastito pripravljenog; jedinke tretirane komercijalno nabavljenim ekstraktom imale su statistički značajno veću duljinu stabljike, površinu listova i količinu klorofila od onih tretiranih vlastito izrađenim ekstraktom.

Ključne riječi: *Phaseolus vulgaris*, prirodni biostimulatori, povišen salinitet, ekstrakt korijena sladića, ekstrakt lista konjske rotkvice, ekstrakt češnjaka

UVOD

Tlo je višefazni složeni sustav koji se razvija na matičnim stijenama kamene kore Zemlje te se sastoji od čvrste faze, zraka, živih organizama i tekuće faze. Tekuću fazu tla sačinjavaju u vodi koloidno disperzirane razne anorganske i organske tvari. Od anorganskih tvari biljkama su posebno važne mineralne soli koje korijenom crpe iz tla, jer one imaju neophodnu ulogu u izgradnji organskih spojeva, stvaranju osmotskog potencijala stanice, kataliziranju određenih biokemijskih procesa itd. U nekim tlima sadržaj soli može biti znatno povećan. Većini kultiviranih vrsta odgovaraju tla u čijoj je tekućoj fazi sadržaj otopljenih soli nizak, dok povećanje koncentracije soli nepovoljno djeluje na njih (Dubravec i Regula, 1995). Povišeni salinitet tla može biti uzrokovan prirodnim procesima ili ljudskom aktivnosti. Prirodni procesi obuhvaćaju trošenje materijala koji sadrže topive soli te taloženje oceanske soli nanošene vjetrom i kišom, dok ljudske aktivnosti podrazumijevaju nepravilno navodnjavanje tla (Parihar i sur., 2015). Povišena koncentracija soli u tlu negativno se odražava na rast i prinos usjeva koji su osjetljivi na povišeni salinitet. Navedeno loše utječe na gospodarstvo i ekonomiju, jer se troše resursi za uzgoj usjeva koji ne ostvaruju svoj puni potencijal u rastu i prinosu zbog slanog tla u kojem se nalaze.

Obični grah (*Phaseolus vulgaris*) veoma je važan usjev u poljoprivredi zbog svojih nutritivnih vrijednosti. To je visokokalorična namirnica koja sadrži 26% bjelančevina, 2,1% masti, 52% ugljikohidrata i gotovo sve esencijalne aminokiseline te pripada biljkama osjetljivim na povišeni salinitet tla (Beti, 2016). U



takvih biljaka javlja se solni stres kada se nađu u uvjetima povišenog saliniteta i to najčešće uzrokovanim povišenim koncentracijama iona Na^+ i Cl^- u tlu (Dubravec, 1995). Reakcije koje se tadajavljaju u navedenim biljkama mogu se podijeliti u dvije skupine ovisno o trajanju izlaganja povišenom salinitetu (Munns i Termaat, 1986). Kada je riječ o kratkotrajnom izlaganju (od nekoliko minuta do nekoliko dana), dolazi do deficit-a vode u biljci koji je proporcionalan osmotskom potencijalu slanog medija u kojem se biljka nalazi (Munns i Termaat, 1986). Vodni potencijal u korijenu pada, a također i onaj u listovima, što limitira daljnji rast listova, a također dolazi do zatvaranja puči (Munns i Termaat, 1986). Nakon duljeg vremena izlaganja biljaka povišenom salinitetu (nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci), zbog transpiracije se povećava koncentracija soli u listovima i to osobito u onim najstarijim, što je pogubno za listove (Munns i Termaat, 1986). Gubljenje listova smanjuje količinu hranjivih tvari koje biljka može proizvesti fotosintezom te limitira njen rast (Munns i Termaat, 1986).

Povećana koncentracija soli u listu narušava ionsku homeostazu stanica listova te uzrokuje citotoksičnost i osmotski stres. Jedan od ključnih odgovora biljnih stanica nakon primanja stresnog signala je sinteza reaktivnih kisikovih oblika pomoću NADPH (nikotinamid adenin dinukleotid fosfat) oksidaze (Vojvodić, 2021). Reaktivni kisikovi oblici (nadalje: ROS) su djelomično reducirane kisikove jedinke te mogu biti slobodni radikali (hidroksidni radikal, superoksidni anion) ili molekule (vodikov peroksid) (Vojvodić, 2021). Svaki pojedini ROS ima određeni kapacitet oksidacije, stoga utječe na različite fiziološke i biokemijske reakcije u stanici. Povećana koncentracija ROS-a u stanici dovodi do oštećenja proteina i lipida koji su sastavni dio stanične membrane i membrana organela (Vojvodić, 2021). ROS uzrokuje degradaciju klorofila te smanjuje membransku fluidnost i selektivnost (Rady i sur., 2019). Antioksidansi su tvari koje nastoje neutralizirati štetne učinke ROS-a, stoga biljne stanice kako bi prevenirale navedene štetne učinke proizvode antioksidativne enzime i neenzimske antioksidanse (Rady i sur., 2019). Biljke s visokim razinama antioksidansa imaju veću otpornost na oksidativno oštećenje (Rady i sur., 2019).

Primjenom biostimulatora može se povećati otpornost biljaka na stres saliniteta. Biostimulatori su fiziološki aktivne tvari koje biljkama pomažu u rastu i razvoju. Sadrže huminske kiseline, aminokiseline, proteine, peptide, polisaharide i vitaminski kompleks (Baraći, 2018). Biostimulatori mogu biti sintetički i nastati kao spojevi u laboratoriju ili prirodni i nastati proizvodnjom biljnih ekstrakata. Primjena biostimulatora je ekološka, stoga su veoma korisni u održivoj poljoprivredi (Baraći, 2018). Rady i sur. (2019) iznose kako prirodni biostimulatori, preciznije biljni ekstrakti bogati antioksidansima, povećavaju otpornost običnog graha na solni stres, a jedan od tih ekstrakata je ekstrakt korijena sladića (*Glycyrrhiza glabra*). Za ekstrakt lista konjske rotkvice (*Moringa oleifera*) i ekstrakt češnjaka (*Allium sativum*) također je eksperimentalno pokazano da povećavaju otpornost običnog graha na stres saliniteta (Zulfiqar i sur., 2020).

U ovom je istraživanju istražen utjecaj navedenih ekstrakata na obični grah u uvjetima povišenog saliniteta, no metode priprave ekstrakta su modificirane, tako da su ekstrakti pripravljeni u vlastitom kućnom okruženju. Rješenje za povećanje otpornosti običnog graha na stres saliniteta postoji i to je prethodno navedena primjena biostimulatora. Međutim, biostimulatore je potrebno ili komercijalno nabaviti, što ima svoju financijsku težinu, ili samostalno izraditi. Stoga, cilj ovog istraživanja jest utvrditi koliko su prirodni, kućno pripremljeni biljni ekstrakti učinkoviti u pružanju otpornosti običnom grahu na stres saliniteta te postoji li razlika između njihova djelovanja i djelovanja onih komercijalno nabavljenih. Poticaj za ovo istraživanje bilo je saznanje o problemu visokog saliniteta u poljoprivredi te



zanimanje za moguće rješavanje tog problema koristeći jeftine i svima dostupne metode koje ujedno ne štete okolišu. Naime, trenutno 20% obrađivanih površina ima povišeni salinitet, a stručnjaci predviđaju da će taj udio do 2050. godine iznositi čak 50% (Jamil i sur., 2011). Ako se predviđanja stručnjaka ostvare, to znači da će primjena biostimulatora u jednom trenutku postati neizostavan dio poljoprivrede. Stoga je potrebno početi razvijati jeftine i jednostavne metode njihove priprave, a da oni sami budu učinkoviti.

Na temelju svega prethodno navedenog, postavljene su sljedeće hipoteze za jedinke običnog graha koje rastu u uvjetima povišenog saliniteta:

1. Skupina jedinki običnog graha tretirana biljnim ekstraktom imat će veći postotak klijavosti od skupine jedinki običnog graha koja nije tretirana biljnim ekstraktom.
2. Jedinke običnog graha tretirane biljnim ekstraktom imat će statistički značajnu veću duljinu stabljične površine listova i količinu klorofila od onih koje prethodno nisu tretirane biljnim ekstraktom.
3. Jedinke običnog graha tretirane kućno pripremljenim ekstraktom korijena sladića neće se međusobno statistički značajno razlikovati u duljini stabljične površine listova i količini klorofila u odnosu na one tretirane komercijalno nabavljenim ekstraktom korijena sladića.

METODE

Kratki opis metoda rada

Kako bi se provjerio učinak prirodnih biostimulatora na rast običnog graha u uvjetima povišenog saliniteta, sjemenke običnog graha najprije su tretirane odgovarajućim ekstraktima, a zatim su postavljene da kliju i razvijaju se na slanoj podlozi. Metode priprave ekstrakata samostalno su osmišljene prema dostupnoj količini tvari za njihovu izradu. Pripravljeni su ekstrakt češnjaka, ekstrakt lista konjske rotkvice te ekstrakt korijena sladića. Ekstrakt korijena sladića nabavljen je komercijalno kako bi se utvrdilo postoji li razlika između njegova djelovanja i djelovanja onog vlastito izrađenog. Kontrolna skupina tretirana je u vodovodnoj vodi prije postavljanja na slanu podlogu. Slana podloga postignuta je prelijevanjem podloge za rast otopinom od $100 \text{ mmol/dm}^3 \text{ NaCl}$. Nakon postavljanja sjemenki na klijanje, sjemenke su puštene 15 dana da se dalje razvijaju. Nakon 15 dana određen je broj prokljajih sjemenki, duljina stabljične površine listova te odnos količina klorofila za svaku skupinu.

Vlastita priprema ekstrakta običnog češnjaka

50 grama češnjaka (*Allium sativum*) usitnjeno je u 500 mL vodovodne vode pomoću sjeckalice. Usitnjavanje u sjeckalici trajalo je 15 minuta. Sadržaj sjeckalice je nakon toga profiltriran kroz sterilnu gazu. Dobiveni filtrat jest vodeni ekstrakt češnjaka.

Vlastita priprema ekstrakta lista konjske rotkvice

Listovi konjske rotkvice (*Moringa oleifera*) sušeni su 2 tjedna te je nakon toga sitno samljeveno 50 grama listova pomoću sjeckalice. Samljeveni listovi prokuhanji su 30 minuta u 1L vodovodne vode. Naveden tekući sadržaj je nakon toga pušten da se ohladi do sobne temperature te je profiltriran kroz sterilnu gazu. Dobiveni filtrat jest vodeni ekstrakt lista konjske rotkvice.

Vlastita priprema ekstrakta korijena sladića

5 grama suhog korijena sladića (*Glycyrrhiza glabra*) kuhan je 30 minuta u 1L vode. Navedena suspenzija prelivena je u sjeckalicu te je usitnjavana 15 minuta. Nakon toga, sadržaj iz sjeckalice je ohlađen do sobne temperature i profiltriran kroz sterilnu gazu. Dobiveni filtrat jest vodeni ekstrakt korijena sladića.

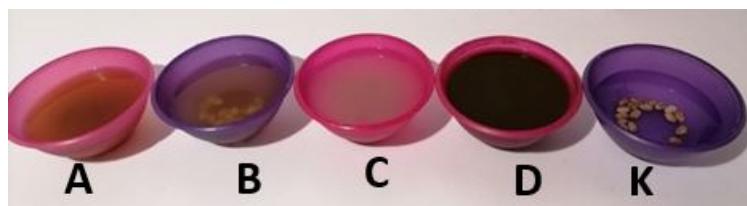


Tretiranje sjemenki običnog graha ekstraktima

100 sjemenki običnog graha (*Phaseolus vulgaris*) podijeljeno je u 5 skupina od kojih su 4 eksperimentalne i jedna je kontrolna. Svaka skupina sadrži po 20 sjemenki graha. Svaka od eksperimentalnih skupina namakana je u 500 mL odgovarajućeg ekstrakta tijekom 4 sata (slika 1), a kontrolna skupina je za to vrijeme namakana u istom volumenu vodovodne vode. Duljina namakanja sjemenki određena je prema istraživanju koje su proveli Rady i Semida (2014). Nazivi skupina i njihovi tretmani prikazani su u tablici 1.

Tablica 1 Nazivi istraživanih skupina sjemenki običnog graha (*Phaseolus vulgaris*) i njihov tretman

NAZIV SKUPINE	TRETMAN SKUPINE
A	tretirana vlastito izrađenim ekstraktom korijena sladića
B	tretirana komercijalno nabavljenim ekstraktom korijena sladića
C	tretirana vlastito izrađenim ekstraktom češnjaka
D	tretirana vlastito izrađenim ekstraktom konjske rotkvice
K-kontrolna	tretirana vodovodnom vodom.

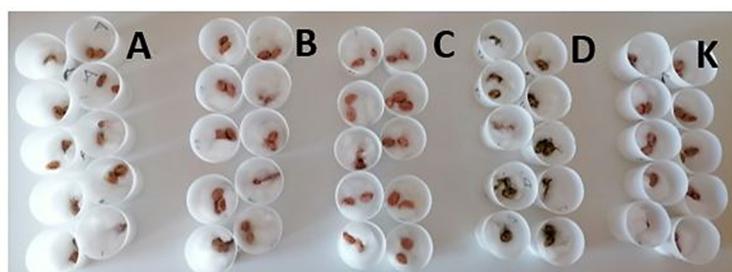


Slika 1 Namakanje sjemenki običnog graha u odgovarajućem ekstraktu

Nakon 4 sata namakanja u odgovarajućem mediju, svaka skupina sjemenki stavljena je u posudu za klijanje.

Priprema posuda za klijanje te tijek klijanja i rasta

Za klijanje su korištene plastične posude kružnog dna promjera 4 cm. Svaka je posuda oprana antibakterijskim sapunom. Na dnu posuda izbušene su 3 male rupice promjera 0,5 mm pomoću igle. Na dno je postavljena sterilna vata. U svaku su posudicu stavljene po dvije sjemenke graha iz iste skupine (skupine su: A, B, C, D i K; tablica 1) (slika 2). Sjemenke su prelivene s 10 mL otopine NaCl množinske koncentracije 100 mmol/dm^3 pripravljene u školskom laboratoriju. Koncentracija je određena prema istraživanju kojeg su proveli Rady i Semida (2014). Sve su posude imenovane prema nazivu skupine sjemenki koje se u njima nalaze. Posude su stavljene u zamračenu prostoriju temperature 25°C na klijanje i dalji rast te su se tamo nalazile 15 dana. Posude su bile redovito provjeravane te je bila održavana stalna vlažnost sterilnih vata u plastičnim posudama dodavanjem odgovarajućeg volumena otopine NaCl. Za navedene prokljale sjemenke su mjerene zavisne varijable navedene u tablici 2.

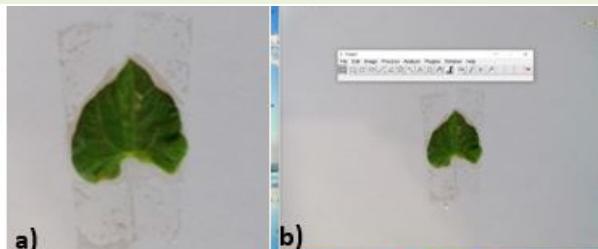
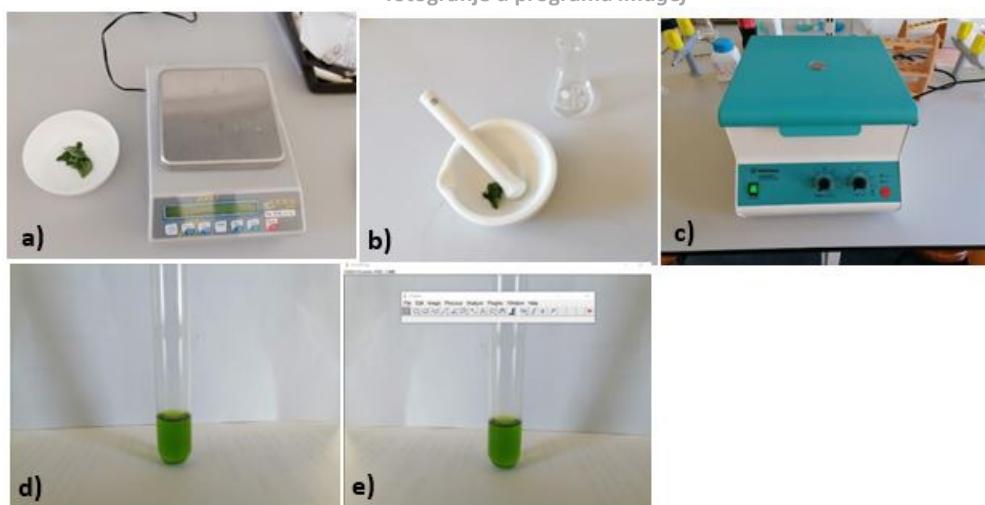


Slika 2 Postavljanje sjemenki običnog graha na klijanje na slanu podlogu



Tablica 2 Popis zavisnih varijabli i postupak njihova mjerena

ZAVISNA VARIJABLA	POSTUPAK MJERENJA ZAVISNE VARIJABLE
broj prokljalih sjemenki	Izbrojan je broj prokljalih sjemenki običnog graha, te je izračunat postotak klijavosti za svaku skupinu prema formuli:
	$\text{postotak klijavosti} = \frac{\text{broj prokljalih sjemenki}}{20} \cdot 100$
duljina stabljične	Jedinkama običnog graha je škarama odstranjen korijen te je ravnalom (najmanje podjele od 1 mm) izmjerena duljina stabljične. Duljina je mjerena od mjesta reza do nodija jedinke.
površina listova	Listovi običnog graha su pomoću prozirne ljepljive trake zalijepljeni na bijelu površinu te su fotografirani. Fotografije su obrađene u programu <i>Imagej</i> je izračunata površina listova na njima (slika 3).
odnos količine klorofila u listovima	0,1 g listova iz svake skupine zasebno su usitnjeni u tarioniku uz dodatak 10 mL 80%-tnog acetona. Sadržaj tarionika je centrifugiran na 3000 rpm tijekom 10 minuta kako bi se izdvojio klorofil u supernatantu. Supernatant je zatim uliven u epruvetu. Ta epruveta je fotografirana na bijeloj podlozi. Pomoću programa <i>Imagej</i> utvrđen je udio zelenih pigmenata na fotografiji (slika 4). Postupak je proveden 3 puta za svaku skupinu, pri čemu je velika pozornost posvećena tome da osvjetljenje na svim fotografijama bude jednako. Izračunata je prosječna vrijednost zelenih pigmenata na slikama za svaku skupinu. Prema odnosima udjela zelenog pigmenta na slikama, skupina koja je imala veći udio zelenog pigmenta na slici određena je kao ona koja ima više klorofila.

Slika 3 Određivanje površine lista običnog graha: a) fotografiranje lista običnog graha na bijeloj podlozi, b) obrađivanje fotografije u programu *Imagej*Slika 4 Određivanje odnosa količine klorofila: a) vaganje listova običnog graha, b) usitnjavanje listova običnog graha u tarioniku uz dodatak acetona, c) centrifugiranje, d) fotografiranje supernatanta, e) računanje udjela zelenog pigmenta u programu *Imagej*



Statističke metode obrade rezultata

Izračunate su prosječne vrijednosti duljina stabljika i površina listova (sve jedinke imale su po 2 lista te se „površina listova“ odnosi na zbroj površina ta dva lista) jedinki koje su proklijale prvi, drugi i treći dan iz svake skupine. U svim slučajevima, za svaku je skupinu izračunata standardna devijacija, kako bi se utvrdila reprezentativnost prosječne vrijednosti. Standardna devijacija (σ) je prosječno srednje kvadratno odstupanje numeričkih vrijednosti neke veličine (x_1, x_2, \dots, x_N) od njihove aritmetičke sredine \bar{x} . Računata je prema formuli:

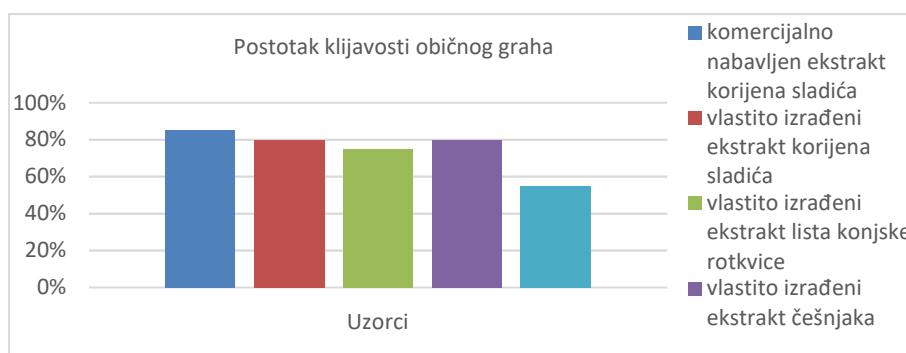
$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

gdje je N broj članova niza (Hrvatska enciklopedija, 2022). Ako je standardna devijacija mala, prosječna vrijednost mjereneh zavisnih varijabli je reprezentativna te se njome smije voditi u donošenju zaključaka. Izračunata je prosječna vrijednost količine zelenih pigmenata na fotografijama supernatanta koja je povezana s količinom klorofila te je također i za ovu zavisnu varijablu izračunata standardna devijacija. Za utvrđivanje statistički značajne razlike u duljini stabljika, površini listova i količini klorofila između jedinki tretiranih prirodnim biostimulatorima i onih netretiranih te između jedinki tretiranih komercijalno nabavljenim ekstraktom korijena sladića i jedinki tretiranih vlastito izrađenim ekstraktom korijena sladića korišten je Student t-test. Student t-test je statistički postupak kojim se utvrđuje je li razlika između dvije aritmetičke sredine statistički značajna. Kao kritična vrijednost za statističku značajnost p uzet je $p=0,05$ (Biology for life, 2022).

Računanje prosječnih vrijednosti, standardne devijacije te Student t-testa napravljeno je u Microsoft Excelu kao i izrada tablica i grafova za prikaz rezultata.

REZULTATI

Postotak klijavosti prikazan je grafički za svaku od pet skupina (slika 5). Najveći postotak klijavosti imala je skupina tretirana komercijalno nabavljenim ekstraktom korijena sladića, a najmanji postotak klijavosti imala je kontrolna skupina. Sve eksperimentalne skupine ostvarile su veći postotak klijavosti od kontrolne skupine.

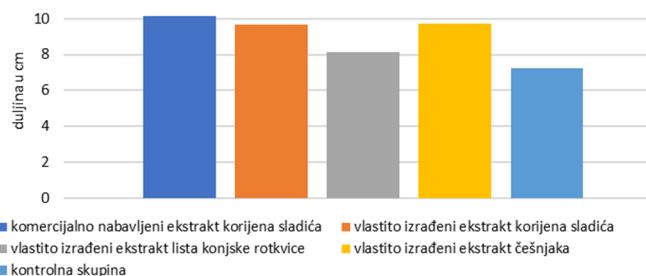


Slika 5 Ovisnost klijavosti običnog graha u uvjetima povišenog saliniteta o tretmanu odgovarajućim prirodnim biostimulatorom

Grafički je prikazana prosječna duljina stabljika skupina za one jedinke proklijale prvi dan (slika 6), drugi dan (slika 7) i treći dan (slika 8) nakon postavljanja na klijanje.



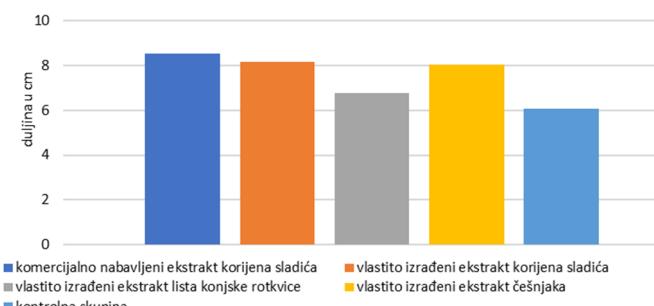
Utjecaj pridonih biostimulatora na obični grah (*Phaseolus vulgaris*) u uvjetima povišenog saliniteta

Mentor:
Pandurić E.

Slika 6 Ovisnost prosječne duljine stabljike običnog graha u uvjetima povišenog saliniteta o tretmanu odgovarajućim prirodnim biostimulatorom prvi dan nakon postavljanja na klijanje



Slika 7 Ovisnost prosječne duljine stabljike običnog graha u uvjetima povišenog saliniteta o tretmanu odgovarajućim prirodnim biostimulatorom drugi dan nakon postavljanja na klijanje



Slika 8 Ovisnost prosječne duljine stabljike običnog graha u uvjetima povišenog saliniteta o tretmanu odgovarajućim prirodnim biostimulatorom treći dan nakon postavljanja na klijanje

Izračunate standardne devijacije za svaku skupinu u sva tri slučaja (tablica 3, tablica 4, tablica 5) upućuju na malu raspršenost rezultata i reprezentativnost prosječne vrijednosti. Potrebno je zasebno razmatrati duljine stabljika jedinki koje su proklijale prvi, odnosno drugi, odnosno treći dan nakon postavljanja na klijanje. Naime, kada bi se računala prosječna vrijednost duljine stabljika svih jedinki iz skupine, bila bi veća raspršenost rezultata (one proklijale prvi dan nakon postavljanja na klijanje imale bi veću duljinu stabljike od onih proklijalih kasnije), čime bi reprezentativnost prosječne vrijednosti duljine stabljika jedinki bila manja. Od jedinki proklijalih prvi dan (slika 6), sve eksperimentalne skupine imale su statistički značajno veću duljinu stabljike od kontrolne skupine. Navedeni međusobni odnosi duljina stabljika skupina vrijede i za jedinke proklijale drugi (slika 7) i treći dan (slika 8) nakon postavljanja na klijanje. Sve izračunate p-vrijednosti iznosile su $p < 0,0001$. Razlike između duljina stabljika jedinki tretiranih komercijalno nabavljenim ekstraktom korijena sladića i stabljika jedinki vlastito pripremljenog ekstrakta korijena sladića također su statistički značajne u sva tri slučaja ($p < 0,002$).



Tablica 3 Vrijednosti standardnih devijacija za duljinu stabljika jedinki tretiranih odgovarajućim prirodnim biostimulatorom, a prokljalih prvi dan nakon postavljanja na klijanje

	komercijalno nabavljeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt češnjaka	vlastito izrađeni ekstrakt lista konjske rotkvice	kontrolna skupina
standardna devijacija	0,07527	0,05477	0,05773	0,06773	0,07681

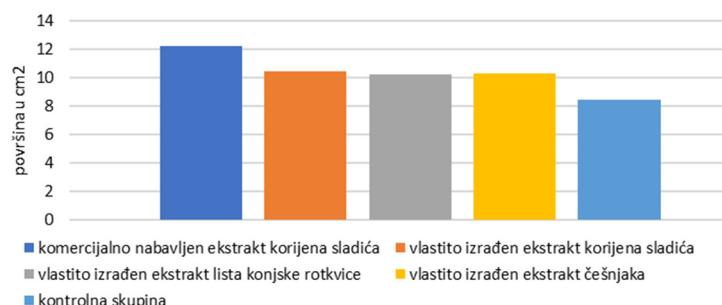
Tablica 4 Vrijednosti standardnih devijacija za duljinu stabljika jedinki tretiranih odgovarajućim prirodnim biostimulatorom, a prokljalih drugi dan nakon postavljanja na klijanje

	komercijalno nabavljeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt češnjaka	vlastito izrađeni ekstrakt lista konjske rotkvice	kontrolna skupina
standardna devijacija	0,07867	0,06366	0,07366	0,05831	0,05773

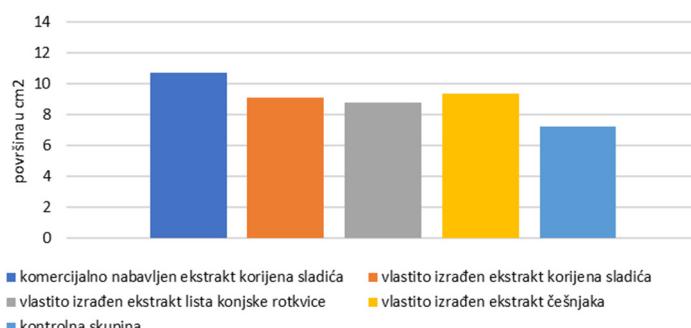
Tablica 5 Vrijednosti standardnih devijacija za duljinu stabljika jedinki tretiranih odgovarajućim prirodnim biostimulatorom, a prokljalih treći dan nakon postavljanja na klijanje

	komercijalno nabavljeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt češnjaka	vlastito izrađeni ekstrakt lista konjske rotkvice	kontrolna skupina
standardna devijacija	0,06527	0,05477	0,05773	0,06773	0,07681

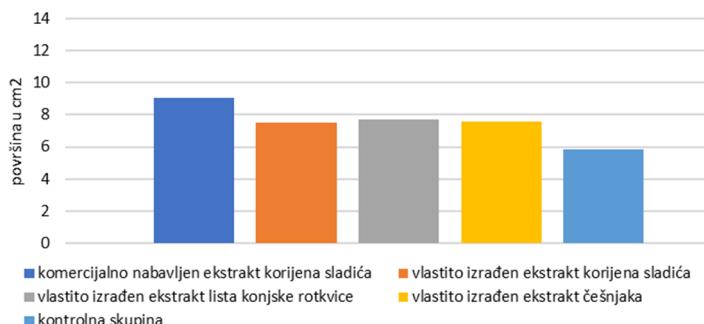
Grafički je prikazana prosječna površina listova skupina za jedinke prokljale prvi dan (slika 9), drugi dan (slika 10) i treći dan (slika 11) nakon postavljanja na klijanje.



Slika 9 Ovisnosti prosječne površine listova običnog graha u uvjetima povиenog saliniteta o tretmanu odgovarajućim prirodnim biostimulatorom prvi dan nakon postavljanja na klijanje



Slika 10 Ovisnosti prosječne površine listova običnog graha u uvjetima povиenog saliniteta o tretmanu odgovarajućim prirodnim biostimulatorom drugi dan nakon postavljanja na klijanje



Slika 11 Ovisnosti prosječne površine listova običnog graha u uvjetima povиšenog saliniteta o tretmanu odgovarajućim prirodnim biostimulatorom treći dan nakon postavljanja na klijanje

Izračunate standardne devijacije za svaku skupinu u sva tri slučaja (tablica 6, tablica 7, tablica 8) upućuju na malu raspršenost rezultata i reprezentativnost prosječne vrijednosti. Potrebno je zasebno razmatrati površinu listova jedinki koje su prokljale prvi, odnosno drugi, odnosno treći dan nakon postavljanja na klijanje. Naime, kada bi se računala prosječna vrijednost površine listova svih jedinki iz skupine, bila bi veća raspršenost rezultata (one prokljale prvi dan nakon postavljanja na klijanje imale bi veću površinu listova od onih prokljalih kasnije), čime bi reprezentativnost prosječne vrijednosti površine listova jedinki bila manja. Od jedniki prokljalih prvi dan (slika 9), sve eksperimentalne skupine imale su statistički značajno veću površinu listova od kontrolne skupine. Navedeni međusobni odnosi površina listova skupina vrijede i za one jedinke prokljale drugi (slika 10) i treći dan (slika 11) nakon postavljanja na klijanje. Sve izračunate p-vrijednosti iznosile su $p < 0,0001$. Razlike između površina listova jedinki tretiranih komercijalno nabavljenog ekstrakta korijena sladića i stabljika jedinki vlastito pripravljenog ekstrakta korijena sladića statistički su značajne u sva tri slučaja ($p < 0,001$).

Tablica 6 Vrijednosti standardnih devijacija za površinu listova jedinki tretiranih odgovarajućim prirodnim biostimulatorom, a prokljalih prvi dan nakon postavljanja na klijanje

	komercijalno nabavljeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt češnjaka	vlastito izrađeni ekstrakt lista konjske rotkvice	kontrolna skupina
standardna devijacija	0,05787	0,06578	0,07423	0,05673	0,06671

Tablica 7 Vrijednosti standardnih devijacija za površinu listova jedinki tretiranih odgovarajućim prirodnim biostimulatorom, a prokljalih drugi dan nakon postavljanja na klijanje

	komercijalno nabavljeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izraђeni ekstrakt češnjaka	vlastito izrađeni ekstrakt lista konjske rotkvice	kontrolna skupina
standardna devijacija	0,05767	0,06896	0,05376	0,05671	0,05893

Tablica 8 Vrijednosti standardnih devijacija za površinu listova jedinki tretiranih odgovarajućim prirodnim biostimulatorom, a prokljalih treći dan nakon postavljanja na klijanje

	komercijalno nabavljeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt češnjaka	vlastito izrađeni ekstrakt lista konjske rotkvice	kontrolna skupina
standardna devijacija	0,05467	0,05987	0,06583	0,07453	0,05641



Rezultati prosječnog udjela zelenih piksela na fotografijama supernatanata odgovarajućih skupina prikazani su u tablici 9. Izračunate standardne devijacije prikazane u tablici 10 ukazuju na malu raspršenost izračunatih udjela zelenih piksela, što dokazuje reprezentativnost prosječnog udjela zelenih piksela. Fotografije uzoraka svih eksperimentalnih skupina imaju statistički značajno veći udio zelenih piksela od fotografije uzoraka kontrolne skupine ($p<0,0002$), odnosno jedinke eksperimentalnih skupina imaju znatno veću količinu klorofila od jedinki kontrolne skupine. Utvrđena je statistički značajna razlika između udjela zelenog pigmenta na fotografijama uzoraka skupine tretirane komercijalno nabavljenim ekstraktom korijena sladića i skupine tretirane vlastito izrađenim ekstraktom korijena sladića, a time jedinke tretirane komercijalno nabavljenim ekstraktom korijena sladića imaju više klorofila od onih tretiranih vlastito izrađenim ekstraktom korijena sladića.

Tablica 9 Prosječna vrijednost udjela zelenog pigmenta na fotografijama supernatanata skupina tretiranih odgovarajućim prirodnim biostimulatorima

	komercijalno nabavljeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt češnjaka	vlastito izrađeni ekstrakt lista konjske rotkvice	kontrolna skupina
prosječna vrijednost udjela zelenog pigmenta na fotografijama supernatanata	37%	30%	29%	31%	20%

Tablica 10 Vrijednosti standardnih devijacija za udio zelenog pigmenta na fotografijama supernatanata skupina tretiranih odgovarajućim prirodnim biostimulatorom

	komercijalno nabavljeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt korijena sladića	vlastito izrađeni ekstrakt lista konjske rotkvice	vlastito izrađeni ekstrakt češnjaka	kontrolna skupina
standardna devijacija	0,02351	0,03769	0,01549	0,02761	0,01387

RASPRAVA

Skupine tretirane prirodnim biostimulatorima imale su veći postotak klijavosti u odnosu na kontrolnu skupinu. Jedinke tretirane prirodnim biostimulatorima imale su statistički značajnu veću duljinu stabljike, površinu listova i količinu klorofila od netretiranih jedinki. Jedinke tretirane komercijalno nabavljenim ekstraktom korijena sladića imale su statistički značajno veću duljinu stabljike, površinu listova i količinu klorofila od jedinki tretiranih vlastito izrađenim ekstraktom korijena sladića. Dobiveni rezultat da su skupine tretirane prirodnim biostimulatorima imale veći postotak klijavosti od netretirane skupine potvrđuje postavljenu hipotezu te se poklapa s istraživanjem koje su proveli Rady i Semida (2014), u kojem je dokazano da biostimulatori pospešuju klijavost graha u uvjetima povišenog saliniteta.

Skupine tretirane biostimulatorima imale su statistički značajnu dulju stabljiku, veću površinu listova i više klorofila od onih koje nisu tretirane biostimulatorima, što također je također u skladu s hipotezom. Naime, biljne stanice, kako bi popravile i ublažile štetne učinke ROS-a (koji nastaje u biljnim stanicama u uvjetima povišenog saliniteta te djeluje destruktivno), razvijaju vlastite antioksidacijske mehanizme koji se sastoje od raznih enzimskih i neenzimskih antioksidanasa (Rady i sur., 2019). No, taj endogeni mehanizam zaštite uglavnom nije dovoljan da bi se jedinke efektivno borile protiv stresa, što objašnjava zaostajanje kontrolne skupine u postotku klijavosti, duljini stabljike, površini listova i količini klorofila u odnosu na jedinke koje su bile tretirane biostimulatorima. Samo je 55% sjemenki prokljalo



iz kontrolne skupine što pokazuje da skoro pa polovica sjemenki nije imala dovoljnu količinu antioksidanasa da uopće proklijije. One jedinke koje jesu proklijale, uspjele su razviti antioksidacijski mehanizam koji će im to omogućiti, no one dalje pokazuju deficit u svim mjer enim zavisnim varijablama u odnosu na jedinke iz eksperimentalnih skupina. Iz grafičkog prikaza rezultata vidljivo je da kontrolna skupina u sva tri slučaja mjerena (mjerena prvog, drugog i trećeg dana) pokazuje približno jednak odstupanje od ostalih jedinki u duljini stabljičke i površini listova, što ukazuje na to da njene stanice vrlo vjerojatno jesu razvile vlastiti antioksidacijski mehanizam koji će im omogućiti daljnje funkcioniranje, jer jedinke kontrolne skupine su proklijale i razvio se izdanak. No, ostvarivanje punog potencijala tih funkcija bit će inhibirano (jedinke iz kontrolne skupine pokazale su deficit u duljini stabljičke, količini klorofila i površini listova). Upravo je zbog toga jedinkama običnog graha u uvjetima povišenog saliniteta potrebno egzogeno tretiranje antioksidansima kako bi se uspješno borile protiv stresa saliniteta. Namakanje sjemenki eksperimentalnih skupina u odgovarajućim ekstraktima, koji obnašaju ulogu biostimulatora, najvjerojatnije je pomoglo biljkama nositi se sa stresom koji uzrokuje sinteza ROS-a. Naime, namakanje sjemenki u navedenom mediju vrlo vjerojatno jest uzrokovalo da u procesu difuzije odgovarajuće aktivne tvari ekstrakata, iz tekućeg medija u kojem se nalaze, uđu u sjemenku običnog graha, obogačujući njen sadržaj antioksidansima. Kasnije, kada su se sjemenke eksperimentalnih skupina našle u pretjerano slanoj okolini, imale su dovoljnu zalihu antioksidanasa da ostvare veći postotak klijavosti od kontrolne skupine te veću duljinu stabljičke, površinu listova i količinu klorofila od kontrolne skupine.

Ekstrakti su pokazali različitu uspješnost djelovanja na jedinke običnog graha u uvjetima povišenog saliniteta. Razlike u duljini stabljičke i površini listova između komercijalno nabavljenog ekstrakta korijena sladiča i vlastito izrađenog ekstrakta korijena sladiča statistički su značajne, što nije u skladu s hipotezom. Jedinke običnog graha tretirane komercijalno nabavljenim ekstraktom korijena sladiča imale su statistički značajnu veću duljinu stabljičke, površinu listova i količinu klorofila od jedinki tretiranih vlastito izrađenim ekstraktom korijena sladiča. Mogući razlog za takav ishod jest razlika u pripravi ekstrakata. Naime, tijekom priprave ekstrakta korijena sladiča, voda je korištena kao sredstvo u koje su se trebale ekstrahirati aktivne tvari, koje će kasnije pospješiti postotak klijavosti, duljinu stabljičke, površinu listova i količinu klorofila tretiranih jedinki. Komercijalno nabavljen ekstrakt korijena sladiča rađen je na bazi etanola. Etanol je organsko otapalo, a molekule organskih otapala manje su polarnosti od molekula vode, zbog čega znatno bolje otapaju fosfolipide (glavne komponente staničnih membrana) čineći stanične membrane permeabilnijima (Sepahpour i sur., 2018). Navedeno će omogućiti da se, prilikom priprave ekstrakta, veća količina tvari ekstrahirira iz korijena sladiča, ako je taj ekstrakt rađen na bazi organskog otapala (Sepahpour i sur., 2018). Kako je u ovom istraživanju ekstrakt korijena sladiča pripravljen na bazi vode, to se najvjerojatnije odrazilo na količinu aktivnih tvari koje su se u tom ekstraktu nalazile, što je smanjilo uspješnost zaštite u odnosu na sposobnost zaštite komercijalno nabavljenog ekstrakta koji je rađen na bazi etanola. Jedinke tretirane komercijalno nabavljenim ekstraktom korijena sladiča pokazuju najveću uspješnost u svim mjer enim zavisnih varijabli u odnosu na ostale eksperimentalne skupine. Imaju najveći postotak klijavosti, duljinu stabljičke, površinu listova i količinu klorofila. Takav ishod objašnjava činjenica da je to jedini ekstrakt koji je rađen na bazi organskog otapala, dok su ostali rađen na bazi vode.

Vlastito izrađeni ekstrakti, iako su pokazali manju djelotvornost od komercijalno nabavljenog ekstrakta, i dalje su ispunili svoju ulogu - pružili su jedinkama običnog graha u nekoj mjeri otpornost



na stres saliniteta te im pomogli ostvariti veću duljinu stabljike, površinu listova i količinu klorofila nego što bi imale da nisu prethodno bile tretirane tim ekstraktima.

U dalnjim istraživanjima trebala bi se napraviti analiza kemijskog sastava korištenih ekstrakata kako bi se utvrdila uspješnost ekstrakcije aktivnih tvari. Mogao bi se pratiti utjecaj saliniteta na prinos graha u uvjetima povišenog saliniteta. Također, istraživanje bi se trebalo provoditi uz još jednu kontrolnu skupinu koja ne bi bila izložena salinitetu kako bi se utvrdile moguće razlike u duljini stabljike, površini listova i količini klorofila između te skupine i onih koje rastu u slanim uvjetima, a tretirane su biostimulatorima.

ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata izvedeni su sljedeći zaključci:

- ➊ Vlastito i kućno izrađeni prirodni biostimulatori pospješuju klijavost običnog graha u uvjetima povišenog saliniteta.
- ➋ Vlastito i kućno izrađeni prirodni biostimulatori pospješuju duljinu stabljike, površinu listova i količinu klorofila običnog graha u uvjetima povišenog saliniteta.
- ➌ Komercijalno nabavljen ekstrakt korijena sladića (rađen na bazi etanola) više pospješuje duljinu stabljike, površinu listova i količinu klorofila od onog vlastito i kućno izrađenog (na bazi vode).

ZAHVALA

Od srca zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima koji su mi bili ogromna podrška u provedbi ovog projekta. Napraviti istraživački projekt bilo je veoma zahtjevno, no oni su me svojom potporom motivirali u najizazovnijim trenutcima te sam im zbog toga neizmjerno zahvalna.

LITERATURA

- Baraći R. 2018. Primjena i uloga biostimulatora u uzgoju plodovitog povrća. Završni rad. Osijek. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Beti A. 2016. Bolesti i štetnici graha na lokacija Branjina u 2016. godini. Završni rad. Osijek. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Biology for life 2022. T-test. <https://www.biologyforlife.com/t-test.html#>, pristupljeno 7.3.2022.
- Dubravec K.-D., Regula I. 1995. Fiziologija bilja. Školska knjiga, Zagreb.
- Hrvatska enciklopedija 2022. Standardna devijacija. <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=57758m>, pristupljeno 7.3.2022.
- Jamil A., Riaz S., Ashraf M., Foolad M.R. 2011. Gene expression profiling of plants under salt stress. Critical Review. Plant Science 30: 435–458.
- Munns R., Termaat A. 1986. Whole Plant Responses to Salinity. Australian Journal of Plant Physiology 13: 143-160.
- Parihar, P., Singh, S., Singh, R. et al. 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. Environmental Science and Pollution Research 22: 4056–4075.
- Rady M.M, Desoky E.-S.M., Elrys A.S., Boghdady M.S.2019. Can licorice root extract be used as an effective natural biostimulant for salt-stressed common bean plants?. South African Journal of Botany 121: 294-305.
- Rady M.M, Semida W.M. 2014. Presoaking application of propolis and maize grain extracts alleviates salinity stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Scientia Horticulturae 168: 210-217.
- Sairam R.K., Deshmukh P.S., Shukla D.S.1997. Tolerance to drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. – Journal of Agronomy and Crop Science 178: 171-177.
- Sepahpour S., Selamat J., Abdul Manap M.Y., Khatib A., Abdull Razis A.F.2018. Comparative Analysis of Chemical Composition, Antioxidant Activity and Quantitative Characterization of Some Phenolic Compounds in Selected Herbs and Spices in Different Solvent Extraction Systems. Molecules 2018: 23-37.
- Vojvodić, J. 2021. Uloga reaktivnih kisikovih oblika u odgovoru biljaka na stresne uvjete. Završni rad. Zagreb. Sveučilište u Zagrebu.
- Zulfiqar F., Casadesús A., Brockman H., Munné-Bosch S.2020. An overview of plant-based natural biostimulants for sustainable horticulture with a particular focus on moringa leaf extracts. Plant Science 295: 110194.



Bioinsekticidno djelovanje gljive *Beauveria bassiana* Bals. – Criv. Vuill. na hrastovu mrežastu stjenicu (*Corythucha arcuata* Say, 1832.)

Barbara Golub, 4 razred

Petra Kovačić, 4. razred

Srednja škola Jastrebarsko, Jastrebarsko

Mentor: Klementina Stepinac

SAŽETAK

Nakon održane prezentacije u školi o entomopatogenim gljivama, odlučile smo proučavati hrastovu mrežastu stjenicu te tako bolje istražiti prezentiranu temu. Cilj istraživanja je ispitivanje bioinsekticidne učinkovitosti gljive *Beauveria bassiana* na odrasle jedinke nove invazivne vrste štetnika hrastovu mrežastu stjenicu koja napada hrast lužnjak u našem parku. U laboratoriju je proveden pokus u trajanju od 7 dana. Napravljenom suspenzijom gljive tretirano je 60 odraslih jedinki stjenica, a 20 jedinki iz kontrolne skupine tretirane su destiliranom vodom. Učinkovitost suspenzije bioinsekticida izmjerena je određivanjem postotka smrtnosti stjenica tretiranih suspenzijom gljive u odnosu na netretirane stjenice, odnosno kontrolnu skupinu. Ispitivani bioinsekticid na bazi gljive *B. bassiana* usmratio je većinu tretiranih jedinki hrastove mrežaste stjenice, čime je dokazano da ima potencijal održavati dinamičku ravnotežu stjenice u prirodi, odnosno može biti učinkovit u smanjenju brojnosti stjenica na hrastu lužnjaku.

Ključne riječi: bioinsekticid; gradski park; hrast lužnjak; dinamička ravnoteža; održivost

UVOD

Očuvanje šumskih površina i zelenila u gradovima u narednim desetljećima susrest će se s brojnim izazovima zbog sve veće potrebe ljudi za drvnim masom i sve izraženijih klimatskih promjena. To će zahtijevati učinkovitije korištenje šumskih resursa uz što manju primjenu kemijskih sredstava za zaštitu. Kemijski insekticidi već godinama predstavljaju glavni način suzbijanja štetnih kukaca. Međutim, sve je češća pojava otpornosti kukaca na insekticide, kao i njihov negativan utjecaj na okoliš. Shodno tome, upotreba bioloških agensa kao što su gljive danas se sve više ispituje zbog ranije navedenih problema. Rana istraživanja pokazuju kako ispravna upotreba gljiva kao bioinsekticida sve više dobiva na važnosti, jer se biološkom zaštitom ne onečišćuje okoliš niti narušava zdravlje ljudi i životinja (Kovač i sur., 2021).

Biološko suzbijanje je mjera zaštite koja podrazumijeva primjenu mikroorganizama koji smanjuju populaciju šumskih štetnika te na taj način kontroliraju njihovo širenje i ublažavaju njihove negativne utjecaje. Korištenjem bioloških agensa kao jednog od načina suzbijanja šumskih štetnika, ne samo da bi se obnovili šumske ekosustavi i zaštitila biološka raznolikost, već bi se i trajno smanjili troškovi samog suzbijanja (Pernek i sur., 2006). Šumski štetnici su biotički čimbenik koji može značajno utjecati na zdravstveno stanje šuma. Broj unesenih invazivnih vrsta šumskih štetnika na području Europe značajno se povećava posljednjih godina. Hrastova mrežasta stjenica (*Corythucha arcuata* Say, 1832) nova je invazivna vrsta na području Hrvatske, a porijeklom je iz Sjeverne Amerike. U Europi je prvi put zabilježena 2000. godine na području sjeverne Italije (Bernardinelli, 2000) te se vrlo brzo proširila i po ostalim europskim zemljama. U Hrvatskoj je prvi put pronađena 2013. godine na području Spačvanskog bazena (Hrašovec i sur., 2013). Hrastove stjenice su mali spljošteni kukci iz reda polukrilaca kojima su prednja krila gornjim dijelom jače hitinizirana, a donja opnasta (Alegro, 2014). Razvojni stadij od jajeta do odrasle jedinke traje 4-6 tjedana i kukac može imati 2-4 generacije godišnje (Bernardinelli, 2000). Krajem ožujka nakon prezimljavanja odrasle jedinke odlaze u krošnju drveća, kao što je hrast lužnjak, na hranjenje. Sredinom svibnja svaka ženka položi između 80 i 160 crnih jaja (slika 1) iz kojih nakon 2-3 tjedna izlaze ličinke koje prolaze kroz 5 razvojnih stadija, nakon čega postaju odrasle (adultne) jedinke (Bernardinelli, 2000) (slika 2).



Slika 1 Jaja hrastove mrežaste stjenice na listu hrasta lužnjaka (Autor: učenik)



Slika 2 Odrasle (adultne) jedinke na listu hrasta lužnjaka (Autor: učenik)

Hrastova mrežasta stjenica hrani se sisanjem lisnih sokova hrasta. Šteta koju možemo vidjeti nakon hranjenja je preuranjena promjena boje lišća iz zelene u žutu (slika 3) te krošnje hrasta koje već u ljeto imaju jesenski izgled. Listovi gube zelenu boju, ne dolazi do fotosinteze, a zbog nedostatka hrane stabla mogu potencijalno obustaviti svoje životne funkcije, zbog čega u sušnim godinama i uzastopnim napadom kukca može doći do njihovog slabljenja i sušenja (Pernek i sur., 2006). Stjenici ne odgovara direktna izloženost suncu već sjenovita mjesta tako da se uvjek nalazi na donjoj strani lista. U Hrvatskoj je prisutna kratko vrijeme pa je razina predacije vjerojatno vrlo niska zbog nedostatka prirodnih neprijatelja, a s obzirom na sve veća ograničenja upotrebe kemijskih sredstava trenutno ne postoje dovoljno učinkovite metode njezinog suzbijanja (Jakobović i sur., 2020).



Slika 3 Promjena boje lista hrasta poslije napada stjenice (Autor: učenik)

Slika 4 Stablo hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) u parku (lipanj 2020) (Autor: učenik)

Hrast lužnjak (*Quercus robur L.*) naša je autohtona listopadna vrsta i gospodarski najvažnija vrsta drveća u šumarstvu Hrvatske. Može doseći visinu i do 50 m, a ističe se i mogućim promjerom debla do 2,5 m (Mingor, 2017). Hrast je prepoznatljivo drvo koje vrlo često možemo pronaći u gradskim parkovima, ali i većim dvorištima. U parku u blizini škole nalazi se nekoliko primjeraka veoma starih hrastova te se na nekim od njih mogu primijetiti promjene boje lista već krajem lipnja (slika 4).

Zbog povećanja mjera zabrana uporabe kemijskih insekticida u Republici Hrvatskoj, sve više se počinju koristiti razna biološka sredstva koja uzrokuju smrt kukaca. Jedna od takvih vrsta sredstava su ona na bazi entomopatogenih gljiva. Na svijetu postoji preko 700 vrsta entomopatogenih gljiva koje različito djeluju na različite vrste kukaca, a jedna od njih je i *Beauveria bassiana* (Pernek i sur., 2006). *B. bassiana* živi u različitim okruženjima. U tlu preživjava u obliku saprotrofnog micelija (u stanju mirovanja) sve dok ne nađe pogodnog kukca u svojoj okolini. Kada kukac dođe u kontakt sa sporama gljive, uslijed odgovarajuće temperature (optimalna između 20°C i 25°C) i visoke vlage zraka (iznad 70



%), dolazi do klijanja spora, probijanja kutikule i ulaska u tijelo kukca. Nakon toga gljiva se širi unutar tijela kukca, izlučuje toksine i razara tkivo, što na kraju dovodi do prestanka hranjenja i njegove smrti (Kovač, 2021). Kada kukac ugine, na površini tijela stvara se karakteristični bijeli micelij koji proizvodi nove spore koje se dalje šire zračnim strujanjima (slika 5).



Slika 5 Micelij na raznim kukcima zaraženim gljivom *Beauveria bassiana* (Autor: Kovač 2021)

Cilj ovog istraživanja je ispitivanje bioinsekticidne učinkovitosti gljive *B. bassiana* na odrasle jedinke nove invazivne vrste štetnika hrastovu mrežastu stjenicu koja napada hrastove u našem parku. To će se ispitati laboratorijskim pokusom u kojem će stjenica biti tretirana sredstvom na bazi gljive *B. bassiana* (bioinsekticidom) te će se pratiti njezina smrtnost (mortalitet) prebrojavanjem i mikroskopskim pregledom uginulih stjenica kroz vremenski period od tjedan dana.

Hipoteza je da gljiva *B. bassiana* može usmrtiti i uzrokovati značajan mortalitet u populaciji hrastove mrežaste stjenice i na taj način biti potencijalno učinkovita u suzbijanju njezinog daljnog širenja ili barem učinkovita u smanjenju njihovog broja (reduciranju populacije), čime bi se teoretski moglo postići održavanje dinamičke ravnoteže između te gljive i stjenice u prirodi. U sklopu istraživanja provedena je i anketa među stanovnicima grada kako bi se ispitalo koliko su informirani o bioinsekticidima te primjećuju li žućenje listova na stablima hrasta u parku već u lipnju (Prilog 1). Pretpostavka je glasila da većina ispitanika neće prepoznati pojам bioinsekticida i njihovu upotrebu.

METODE

Sakupljanje uzorka i priprema pokusa

U laboratoriju je proveden pokus u kojima je ispitana utjecaj entomopatogene gljive *B. bassiana* na odrasle jedinke hrastove stjenice. Pokus je proveden u trajanju od 7 dana (od 4. srpnja do 10. srpnja 2020.). Terensko sakupljanje uzorka bilo je 4. srpnja 2020. Za potrebe istraživanja odabrana su dva stara stabla hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u obližnjem parku (slika 6). Voćarskim škarama odrezano je 10 grančica s napadnutim listovima i stavljeni u papirnate vrećice (slika 7).



Slika 6 Područje istraživanja
(preuzeto: <https://www.google.hr/maps/>)



Slika 7 Skupljanje uzorka grančica napadnutih stjenicom (Autor: učenik)

Postavljanje pokusa

S prikupljenog materijala pincetom su izolirane žive odrasle jedinke hrastove stjenice (slika 8). U osam Petrijevih zdjelica stavljena je celulozna vata (staničevina) koja služi za održavanje vlažnosti i u svaku zdjelicu raspoređeno je pojedinačno 10 nasumično odabranih stjenica.

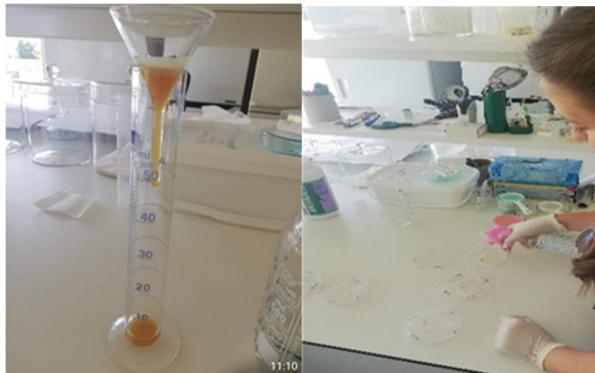


Slika 8 Postavljanje pokusa – izolacija stjenica sa listova hrasta (Autor: učenik)

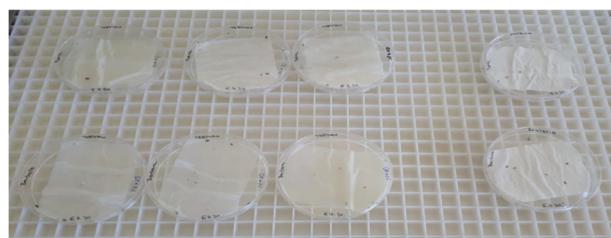


Slika 9 Naturalis® Biogard- korišteno bioinsekticidno sredstvo (preuzeto:
<https://agrarpetrovic.rs/product/naturalis-biogard-biopesticid/>)

Prema metodologiji korištenoj u Kovač (2021) i Kovač i sur. (2021), u menzuru je odmjereno 5 ml sredstva Naturalis® Biogard, koje sadrže žive spore entomopatogene gljivice *B. bassiana* (slika 9) te je dodano 45 ml destilirane vode kako bi dobili razrjeđenje u omjeru 1:10, odnosno suspenziju. Napravljenom suspenzijom biopesticida, uz pomoć ručne prskalice, tretirano je 6 Petrijevih zdjelica (u svaku se špricnulo po 2 puta što je približno 1 mL), odnosno tretirano je 60 jedinki kukaca (slika 10), dok su 2 Petrijeve zdjelice sa ukupno 20 jedinki stjenica tretirane destiliranom vodom (istovjetne količine količini suspenzije u Petrijevkama tretiranim bioinsekticidom) i one su predstavljale kontrolnu skupinu. Sve Petrijeve zdjelice poklopljene su i posložene na čvrstu podlogu te držane u laboratorijskim uvjetima 7 dana ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ s fotoperiodom D:N = 16:8 h) (slika 11).



Slika 10 Priprema suspenzije i tretiranje stjenica bioinsekticidom (Autor: učenik)



Slika 11 Postavljen pokus – 6 Petrijevih zdjelica tretiranih sa bioinsekticidom i 2 Petrijeve zdjelice (tretirane destiliranom vodom) - kontrolna skupina (Autor: učenik)

Tijek pokusa

Nakon prskanja praćen je mortalitet (smrtnost) odraslih jedinki hrastove mrežaste stjenice 2., 4. i 7. dan nakon tretiranja. Pregled svih Petrijevih zdjelica izvršen je tako da se svaki kukac dodirnuo pincetom nekoliko puta. Stjenice su se smatrali uginulima ako nisu reagirale na podražaje, tj. nisu se pomicale. Posljednje prebrojavanje napravljeno je 7 dana nakon tretiranja i one stjenice koje su još bile pokretne i žive pincetom su odvojene u drugu Petrijevu zdjelicu (slika 12). Zatim je svaki uzorak stjenice (koje su uginule) mikroskopski pregledan pod povećanjem 40 x kako bi se potvrdilo da je bijeli micelij prisutan na jedinkama (slika 13 i slika 14). Učinkovitost suspenzije bioinsekticida izmjerena je određivanjem postotka uginuća stjenica uzrokovanih zarazom gljivom u odnosu na ukupan broj tretiranih stjenica te uspoređivanjem s kontrolnom skupinom na temelju izgleda pod mikroskopom.

Slika 12 Izdvojene hrastove stjenice
(Autor: učenik)Slika 13 Mikroskopski pregled mrtvih stjenica
(Autor: učenik)

Nakon provedenog istraživanja, koje je obuhvatilo ukupno 80 jedinki stjenica, svi rezultati su obrađeni i objedinjeni u računalnom programu Microsoft Excel te su prikazani grafički i tablično.



U sklopu istraživanja provedena je anketa koliko su sugrađani u našem gradu informirani o bioinsekticidima te promjenama uzrokovanim stjenicama s 3 pitanja: *Jeste li čuli za bioinsekticidne vrste?*; *Jeste li primijetili ranu pojavu žutila na listovima hrasta?*; *Biste li koristili bioinsekticide umjesto kemijskih sredstava (pesticida)?*. U anketi je ukupno sudjelovalo 50 ispitanika/ sugrađana koji su anketirani slučajnim odabirom u gradskom parku.

REZULTATI

Rezultati prebrojavanja uginulih jedinki stjenica (mortalitet) prikazani su u tablicama 1 i 2. U tablici 1, koja prikazuje broj uginulih jedinki po danima u tretiranoj skupini stjenica, vidljivo je da je nakon provedbe laboratorijskog pokusa tretiranja odraslih jedinki dobiven mortalitet stjenica od 100%.

Tablica 1 Rezultati prebrojavanja mrtvih jedinki stjenica nakon tretmana biopesticidom.

	drugi dan	četvrti dan	sedmi dan	Mortalitet stjenica (%) u tretiranoj skupini 7. dana
Žive stjenice	59	21	0	0%
Mrtve nezaražene	0	8	10	16%
Mrtve zaražene	1	31	50	84%
Ukupan broj stjenica	60	60	60	100%

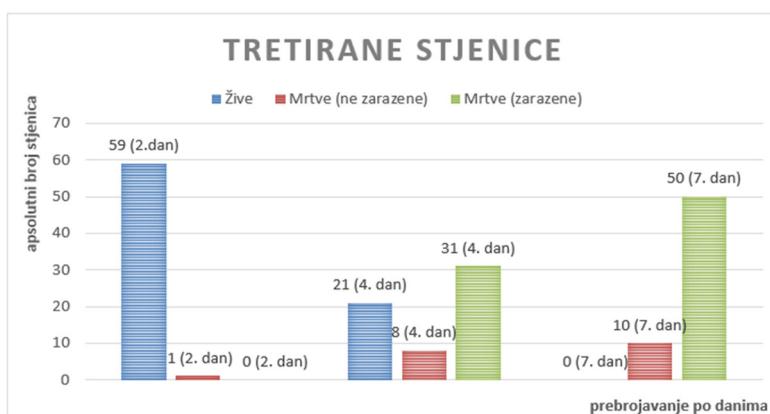
Na preostalih 10 uginulih jedinki, pod mikroskopom nije bio vidljiv razvijen bijeli, gusti micelij (karakterističan za gljivu *B. bassiana*) (slika 14), što znači da one najvjerojatnije nisu uginule od zaraze gljivom nego uslijed drugih čimbenika (slika 15). Iz stupaca na grafu vidljive su razlike u broju živih i mrtvih stjenica po danima prebrojavanja.



Slika 14 Uzorak mrtvih stjenica pod mikroskopom koje su prekriven micelijem gljive (Autor: učenik)



Slika 15 Uzorak mrtve stjenice pod mikroskopom iz kontrolne skupine (Autor: učenik)



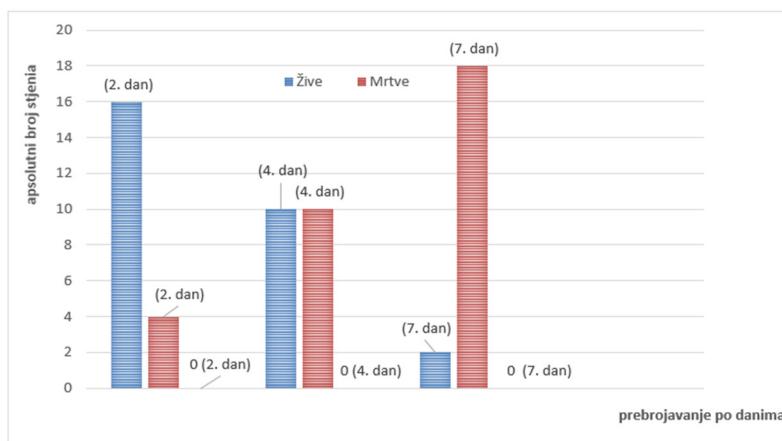
Slika 16 Usporedba absolutnog broja mrtvih zaraženih i nezaraženih jedinki po danima tretirane skupine stjenica.



Iz tablice 2 koja prikazuje kontrolnu skupinu tj. skupinu bez korištenog biopesticida također se može uočiti visoki mortalitet nakon 7 dana (85 %) uzrokovano raznim vanjskim čimbenicima na koje ne možemo utjecati.

Tablica 2 Prebrojavanje mrtvih jedinki po danima kontrolne skupine stjenica.

	drugi dan	četvrti dan	sedmi dan	mortalitet stjenica (%) u kontrolnoj skupini 7. dana
Žive stjenice	16	10	3	15%
Mrtve nezaražene	4	10	17	85%
Mrtve zaražene	0	0	0	0%
Ukupan broj stjenica	20	20	20	100%



Slika 17. Usporedba broja mrtvih i živilih jedinki stjenica po danima u kontrolnoj skupini.

Rezultati ispitivanja koje smo provele anketom pokazali su da građani ne znaju što su bioinsekticidi, ali da i sami primjećuju promjene boje lista na hrastovima te bi radije koristili bioinsekticidna sredstva nego pesticidna kada bili u mogućnosti.



Slika 18. Odgovori sugrađana o tome koliko su informirani o bioinsekticidima te promjenama uzrokovanim stjenicama

RASPRAVA

U provedenom istraživanju, nakon provedbe laboratorijskog pokusa tretiranja odraslih jedinki hrastove mrežaste stjenice bioinsekticidom na bazi gljive *B. bassiana*, dobiven je mortalitet (smrtnost) stjenice od 100 % od čega je mortalitet uzrokovani zarazom gljive iznosio 84 %. 50 od ukupno 60 tretiranih stjenica, pretpostavlja se, uginulo je zbog zaraze sporama sedam dana nakon tretmana.

Nakon mikroskopskog pregleda utvrđile smo da se na preostalih 10 uginulih jedinki nije razvio bijeli micelij karakterističan za gljivu *B. bassiana*, čime možemo pretpostaviti da one nisu uginule od zaraze



gljivom ili nisu pokazale nikakve simptome. U kontrolnoj skupini također se može uočiti visok mortalitet nakon 7 dana (85 %), i uzrok vjerojatno leži u razdoblju sakupljanja uzorka (4. srpanj) jer tada dolazi do prirodne smjene generacija pa su stjenice korištene u pokusu bile prirodno pri kraju svog životnog vijeka, ili u činjenici da u laboratorijskim uvjetima (van njihovog prirodnog okruženja) stjenice žive kraće, što je već dokazano u prethodnim istraživanjima (Kovač, 2021; Kovač i sur., 2021).

Dobiveni rezultati pokazuju da je ispitivani bioinsekticid na bazi gljive *B. bassiana* usmrtio većinu tretiranih jedinki hrastove mrežaste stjenice, čime je potvrđena hipoteza da je gljiva *B. bassiana* djelotvorna protiv tog invazivnog kukca, što se podudara sa sličnim provedenim pokusima (Sönmez i sur., 2016.; Kovač, 2021).

Rezultati također dokazuju da postoji mogućnost primjene gljive u sprječavanju ili usporavanju širenja ove vrste u prirodi, ali ne možemo izvesti konkretan zaključak na tu temu. Može se reći da je zbog razloga koje smo ispitivale u svojem istraživanju ova gljiva dobra alternativa pesticidima i može služiti kao motivacija za istraživanje njezinog učinka. Naši rezultati također mogu potvrditi prednosti upotrebe gljive *B. bassiana* kao bioinsekticida koje su dokazali Kovač i sur. (2021):

1. Visoka razina specifičnosti, odnosno selektivnosti prema štetnicima. Gljive se mogu koristiti za suzbijanje štetnih kukaca bez utjecaja na prirodne neprijatelje i korisne parazite.
2. Nema štetnog učinka za sisavce i sigurne su za okoliš.
3. Smanjuju problem uzrokovani razvojem rezistentnosti kukaca na pesticide.
4. Visok potencijal za daljnji razvoj biotehnoloških istraživanja.
5. Pruža održivost u okolišu što omogućuje dugoročni učinak bioinsekticidnih gljiva.

S obzirom da šume hrasta lužnjaka zauzimaju velike površine na području Republike Hrvatske (Mingor, 2017), u gotovo svima se može naći hrastova mrežasta stjenica. Gotovo je nemoguće tretirati toliki broj stabala u prirodnim šumama i tako potpuno suzbiti tog kukca i spriječiti daljnje napade. Bez obzira na to, gljiva *B. bassiana* ima potencijal održavati dinamičku ravnotežu stjenice u parku, odnosno može biti učinkovita u smanjenju njezine brojnosti (reduciranju populacije), čime bi se mogao postići prirodni balans između stjenice i gljive (Kovač i sur., 2021). Moguće je gljivu *B. bassiana* kao biopesticid koristiti na manjim površinama ili pojedinačnim stablima u zaštićenim parkovima kao što je i slučaj u našem istraživanju.

Smatramo da smo svojim istraživanjem postigle zadane ciljeve jer smo ukazale kako je takva vrsta bioinsekticida djelotvorna i nadamo se da će u skorijoj budućnosti biti odobren na tržištu Republike Hrvatske kao sredstvo za zaštitu ove nove invazivne vrste stjenica i početi se primjenjivati.

O rezultatima našeg istraživanja izvjestile smo djelatnike Upravnog odjela za gradnju i zaštitu okoliša u našem gradu. Budući da ne posjeduju podatke o napadu hrasta u parku sa invazivnom vrstom stjenica, smatramo da su gradski parkovi i zelenilo važan prirodan resurs i izvor dodatnih vrijednosti svakoga grada te smo ovim radom htjele ukazati i potaknuti ljudi koji vode grad koliko je važno da u budućnosti promišljeno vrše zaštitu stabala i zelenih površina u gradu. Na taj način dugoročnim mjerama mogu svojim građanima, a posebno djeci omogućiti zeleniji i zdraviji život.

Prijedlog za moguće unaprjeđenje istraživanja jest uzimanje uzorka stjenica tijekom lipnja kako bi do kraja eksperimenta više njih preživjelo. Zbog toga ćemo i nastaviti s našim istraživanjem i praćenjem zdravlja stabla hrastova u našem parku. Isto tako, nakon provedene ankete odlučile smo o rezultatima



našeg istraživanja i bioinsekticidnim vrstama upoznati učenike u svojoj školi i sve zainteresirane sugrađane povodom Svjetskog dana šuma.

Ovakva mjerena i istraživanja potrebno je provoditi u budućnosti radi dobrobiti svih građana koji žive u gradu, ali i šire.

ZAKLJUČCI

Temeljem dobivenih rezultata našeg istraživanja mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- ➊ Ispitivani bioinsekticid na bazi gljive *B. bassiana* usmrtio je većinu tretiranih jedinki hrastove mrežaste stjenice.
- ➋ Gljiva *B. bassiana* može biti učinkovita u smanjenju njezine brojnosti (reduciranju populacije), čime bi se mogao postići prirodni balans između stjenice i gljive na hrastu lužnjaku.

ZAHVALA

Zahvalnost za veliku pomoć, potporu i strpljenje dugujemo znanstvenici Marti Kovač zaposlenoj na Hrvatskom šumarskom institutu u Jastrebarskom. Cijelo istraživanje bilo bi nemoguće provesti bez potpore naše mentorice, razrednice te svih kolega iz razreda.

LITERATURA

- Alegro A, Krajačić M, Lucić A. 2014. Život 2, udžbenik biologije u 2. razredu gimnazije. Školska knjiga, Zagreb.
- Bernardinelli I, Zandigiacomo P. 2000. Prima segnalazione di *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera, Tingidae) in Europa. Informatore Fitopatologico, 50: 47–49.
- Hrašovec B, Posarić D, Lukić I, Pernek M. 2013. Prvi nalaz hrastove mrežaste stjenice (*Corythucha arcuata* Say, 1832) u Hrvatskoj. Šumarski list, 137: 499–503.
- Jakobović H. 2020. Prirodnim štetnicima protiv hrastove mrežaste stjenice, Hrvatske šume 280, str. 8-9. <http://casopis.hrsume.hr/pdf/280.pdf> pristupljeno 5.4.2020
- Kovač M. 2021. Entomopatogene gljive roda *Beauveria* u Hrvatskoj i mogućnosti njihove uporabe u biološkoj kontroli šumskih štetnika. Doktorski rad, Fakultet šumarstva i drvene tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, 29. siječanj 2021.
- Kovač M, Linde A, Lacković N, Bollmann F, Pernek M. 2021. Natural infestation of entomopathogenic fungus *Beauveria pseudobassiana* on overwintering *Corythucha arcuata* (Say) (Hemiptera: Tingidae) and its efficacy under laboratory conditions. Forest Ecology and Management, 491: 119193.
- Mingor, Zavod za zaštitu okoliša i prirode, 2017. Hrast lužnjak (*Quercus robur* L.), Zagreb. <http://www.haop.hr/hr/tematska-područja/prirodne-vrijednosti-stanje-i-ocuvanje/bioraznolikost/flora/hrast-luznjak-quercus>, pristupljeno 5.4.2020.
- Pernek M, Liović B, Matošević D. 2006. Patogeni šumskih štetnika - značaj i budućnost u zaštiti šuma. Radovi -Šumarski institut Jastrebarsko, 41(1-2): 147–154 <https://hrcak.srce.hr/16923>, pristupljeno 5.4.2020
- Sönmez E, Demirbag Z, Demir I. 2016. Pathogenicity of selected entomopathogenic fungal isolates against the oak lace bug, *Corythucha arcuata* Say. (Hemiptera: Tingidae), under controlled conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 40: 715-722.



Utjecaj sunčeve svjetlosti na žućenje i opadanje listova

Mate Ćurić, 4. razred

Ante Čorić, 4. razred

Tonkica Strmić, 3. razred

SŠ Braća Radić, Kaštel Štafilić – Nehaj

Mentori: Ivanka Stipoljev, Mihajlo Lerinc

SAŽETAK

Ovaj projekt istražuje utjecaj sunčeve svjetlosti u korelaciji s atmosferskim čimbenicima na žućenje i opadanje listova, sinhronu senescenciju. Istraživanje je provedeno na običnoj smokvi (*Ficus carica* L.) koja je samo jednim dijelom krošnje na izravnoj sunčevoj svjetlosti. Korišteni su GLOBE protokoli za atmosferu, površinsku temperaturu i green-down (žućenje lišća). Za usporedbu rezultata korišten je green-down obične smokve Ekonomsko-birotehničke škole u Splitu i Gozo College srednje škole na Malti zbog sličnih klimatskih čimbenika. Praćenje žućenja i površinske temperature listova obavljalo se na tri grane na izravnoj svjetlosti i tri grane na neizravnoj svjetlosti dva puta tjedno u solarno doba od 17. rujna do 2. prosinca 2019. godine. Istraživanje je pokazalo da sinhrona senescencija nije jednak kod listova na izravnoj i neizravnoj sunčevoj svjetlosti. Kod listova na izravnoj sunčevoj svjetlosti započela je mjesec dana ranije. Izravna sunčeva svjetlost i viša površinska temperatura listova ubrzali su intenzitet staničnog disanja, razgradnju klorofila i žućenje listova. Slične rezultate pokazuje green-down obične smokve Gozo College srednje škole na Malti. Listovi na neizravnoj sunčevoj svjetlosti zbog niže površinske temperature lisnog tkiva duže su bili fotosintetski aktivni, imali su sporije disanje, sporiju razgradnju klorofila i sporiji green-down. Slične rezultate pokazuje green-down obične smokve Ekonomsko-birotehničke škole u Splitu, koja raste na neizravnoj sunčevoj svjetlosti.

Ključne riječi: GLOBE; *Ficus carica*; obična smokva; sunčeva svjetlost; žućenje

UVOD

Smokva je jedna od najstarijih kultiviranih voćaka na svijetu i pripada porodici dudova (*Moraceae*) (Vego i sur., 2008). Smokva je termofilna i listopadna voćka (Plantea, 2012). Budući da ima vrlo dobro razvijen korijenov sustav, relativno dobro podnosi sušu i uzgoj na nekultiviranim terenima (Vego i sur., 2008). Dobro je prilagođena različitim tipovima tala (Plantea, 2012).

U životnom ciklusu biljnih organa i organizama možemo morfološki i fiziološki razlikovati stadij mladosti, stadij fiziološke zrelosti i stadij starosti (senescencije) u kojoj postupno prevladavaju procesi razgradnje što dovodi do starenja i uginuća biljaka (Dubravec i Regula, 1995). Kod listova razlikujemo dva tipa senescencije, sekvencijsku i sinhronu (Dubravec i Regula, 1995). Kod sekvencijske stare i uginu samo najstariji listovi, dok kod sinhronne senescencije svi listovi odjednom stare i otpadnu, što je slučaj kod listopadnog drveća i grmlja u jesen (Dubravec i Regula, 1995). Budući da su biljke ovisne o uvjetima okoliša u kojem rastu (temperatura zraka i tla, sastav tla, vlažnost zraka i zemlje, sunčeva svjetlost), promjene u okolišu značajno utječu na rast biljaka kao i na sam početak procesa starenja (Dubravec i Regula, 1995). Prvi vidljivi znak starenja listova je njihovo žućenje.

Kao članovi GLOBE grupe naše škole, već dvije godine pratimo fenološke promjene bioloških ciklusa i njihovu povezanost s klimom. Učimo se služiti novim izvorima znanja, razvijamo kreativnost, istraživački duh, razmjenjujemo spoznaje s drugim školama i učenicima diljem svijeta.

Na redovnoj nastavi biologije upoznajemo naše vršnjake s metodama rada i dobivenim rezultatima istraživanja u prirodi s ciljem očuvanja okoliša.

U ovom radu istraživanje je provedeno na običnoj smokvi (*Ficus carica* L.) s ciljem utvrđivanja utjecaja izravne i neizravne svjetlosti u kombinaciji s atmosferskim čimbenicima na žućenje i opadanje listova.



Istraživačka pitanja ovog projekta su:

- ➊ Hoće li izravna i neizravna sunčeva svjetlost jednakom utjecati na žućenje i opadanje listova (green-down) kod smokve (*Ficus carica* L.)?
- ➋ Što uzrokuje opadanje lišća u jesen, svjetlo, temperatura ili oboje?

Naša pretpostavka je da će izravna sunčeva svjetlost, a time i viša temperatura signalizirati smanjenu fotosintezu i transpiraciju što će na kraju dovesti do sinhronne senescencije. Očekujemo da će listovi na izravnoj sunčevoj svjetlosti prvi požutjeti i otpasti.

METODE

U radu su korišteni protokoli znanstveno obrazovnog programa GLOBE (eng. Global Learning and Observations to Benefit the Environment) za:

1. promatranje žućenja lišća (green-down)
2. mjerjenje površinske temperature lista
3. mjerjenje temperature zraka
4. mjerjenje količine oborine
5. green-down obične smokve (*Ficus carica* L.) Ekonomsko-birotehničke škole u Splitu i Gozo College srednje škole na Malti.

Da bismo utvrdili odnos sunčeve svjetlosti i green-down-a, promatrali smo stablo smokve u školskom okolišu (geografska širina 43,5469°, geografska dužina 16,3268°, nadmorska visina 4,0 m), staro 15 godina, dobro razvijene krošnje. Smokva je samo jednim dijelom krošnje na izravnoj sunčevoj svjetlosti.

Mjerjenja za analizu green-down provedena su u razdoblju od 17. rujna do 2. prosinca 2019. godine.

Praćenje žućenja listova i mjerjenje površinske temperature obavljalo se na tri grane na izravnoj svjetlosti i tri grane na neizravnoj svjetlosti dva puta tjedno u solarno doba (slika 1).



Slika 1. Smokva na kojoj se pratilo žućenje listova i mjerila površinska temperatura listova na tri grane na izravnoj svjetlosti (lijevo) i tri grane na neizravnoj svjetlosti (desno)

Žućenje listova pratilo se pomoću GLOBE karte biljnih boja (prilog 1), a površinska temperatura listova mjerila se s infracrvenim termometrom (slika 2).

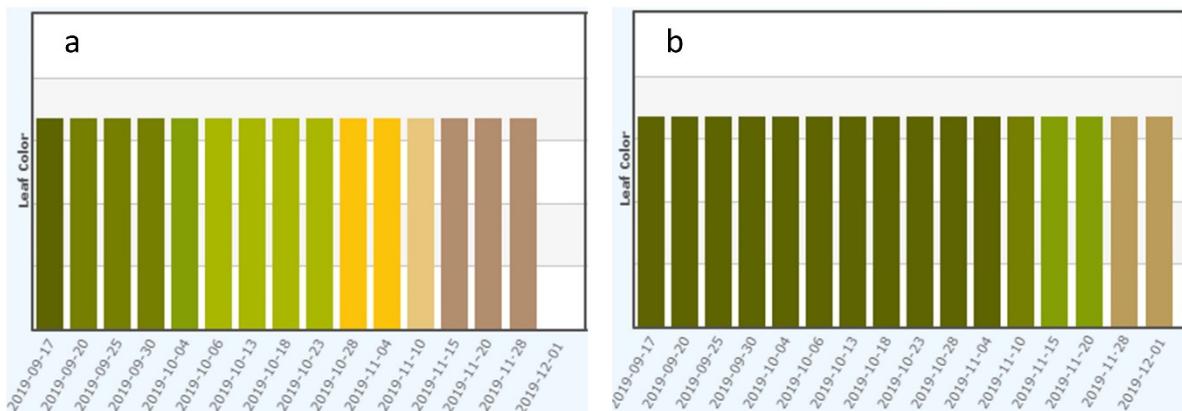


Slika 2. Određivanje boje i mjerjenje površinske temperature listova smokve

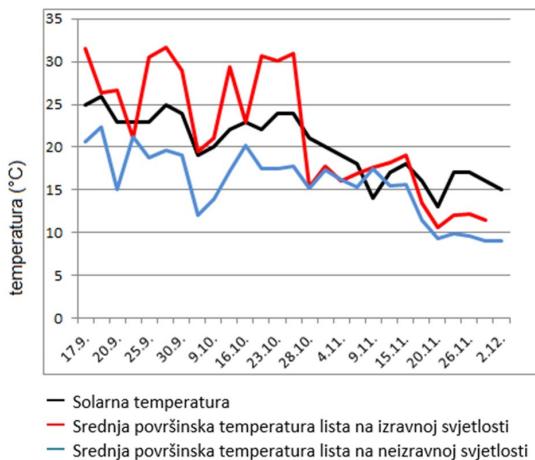
Temperatura zraka i količina oborine su mjerene školskom meteorološkom stanicom prema GLOBE protokolu.

REZULTATI

Promjene boje listova smokve u ovisnosti o svjetlosti, temperaturi zraka i površinskoj temperaturi listova, prikazane su na slici 3 i u tablici 1.

Slika 3. Green-down obične smokve (*Ficus carica L.*). Prikaz srednje vrijednosti promjene boje listova smokve: a) na izravnoj sunčevoj svjetlosti i b) na neizravnoj sunčevoj svjetlosti

Boja listova na izravnoj sunčevoj svjetlosti se promijenila šest puta (slika 3a, tablica 1). Prva promjena je nastupila 4.10.2019. Količina klorofila se postupno smanjivala. Krajem listopada do izražaja dolaze ksantofili i karotenoidi. Krajem studenog je nastupila nekroza i opadanje listova (zadnji list je otpao 2.12.2019.) čemu je doprinijelo kišovito vrijeme (slika 5). Tijekom promatranja su povremeno izmjerene gotovo iste površinske temperature listova na svjetlu i u sjeni zbog izjednačenih mikroklimatskih uvjeta (oblačno i vjetrovito vrijeme) (slika 4).

Slika 4. Srednje površinske temperature listova obične smokve (*Ficus carica L.*) u odnosu na solarnu temperaturu

Boja listova na neizravnoj sunčevoj svjetlosti se promijenila pet puta (slika 3b, tablica 1). Sve do 7.11.2019. dominirala je boja 5GY 4/8 (tablica 1, prilog 1). Količina klorofila je prilično stalna do završnih faza starenja i opadanje listova. Zadnji list je otpao 4.12.2019. čemu je doprinijelo kišovito vrijeme (slika 5).

Mjerenja su pokazala da je srednja površinska temperatura listova na svjetlu viša od srednje površinske temperature listova u sjeni, što je i bilo za očekivati zbog izloženosti direktnoj svjetlosti i viših temperatura zraka. Posljedično su ubrzani biološki procesi u listovima na izravnoj svjetlosti koji se očituju bržom promjenom boje uslijed razgradnje klorofila (tablica 1).

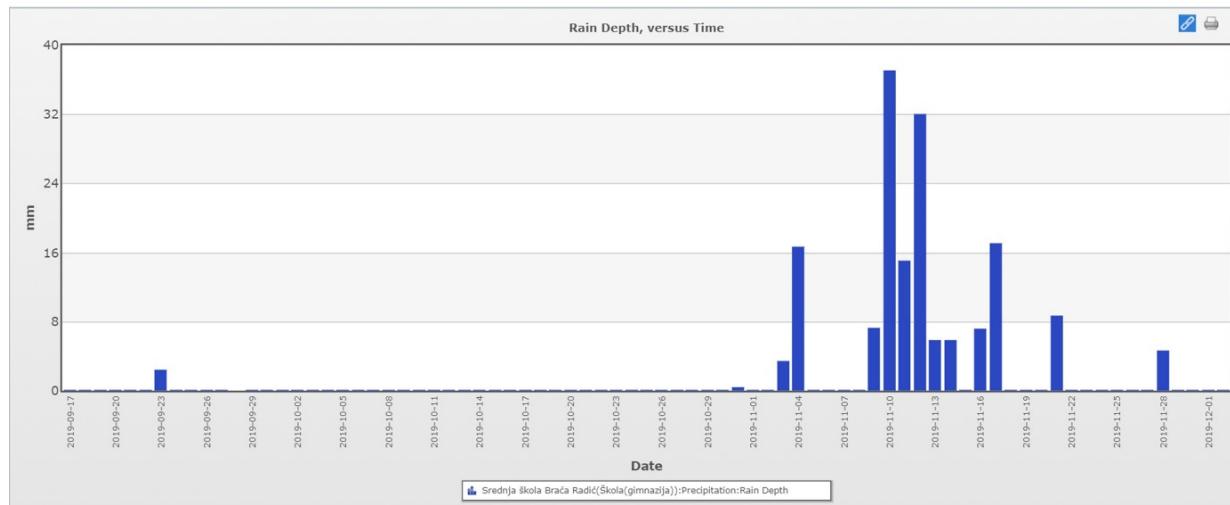
Tablica 1. Prikaz sinhrone senescencije obične smokve (*Ficus carica L.*) u korelaciji s temperaturom zraka i površinskom temperaturom listova

Datum	Izravna sunčeva svjetlost: boja i površinska temperatura lista (°C)	Neizravna sunčeva svjetlost: boja i površinska temperatura lista (°C)	Solarna temperatura (°C)
17. 09. 2019.	30,10	20,60	25
20. 09. 2019.	26,00	15,00	23
23. 09. 2019.	21,00	21,20	23,8
26. 09. 2019.	30,50	18,80	23
29. 09. 2019.	29,00	19,00	25
04. 10. 2019.	21,30	12,00	19
09. 10. 2019.	21,00	13,00	20,2
13. 10. 2019.	29,40	17,30	22
16. 10. 2019.	23,00	20,30	23
19. 10. 2019.	30,70	17,50	22,5
23. 10. 2019.	30,10	17,50	24
25. 10. 2019.	31,00	17,70	24
28. 10. 2019.	15,30	15,20	21
31. 10. 2019.	17,70	17,40	20
04. 11. 2019.	16,00	16,26	19
07. 11. 2019.	16,90	15,40	18
10. 11. 2019.	17,60	17,60	14,6
13. 11. 2019.	18,00	15,50	17
15. 11. 2019.	19,00	15,70	18
18. 11. 2019.	13,40	11,40	16
20. 11. 2019.	13,00	10,60	13
23. 11. 2019.	11,80	9,90	17
02. 12. 2019.	otpao	8,70	15
04. 12. 2019.		otpao	



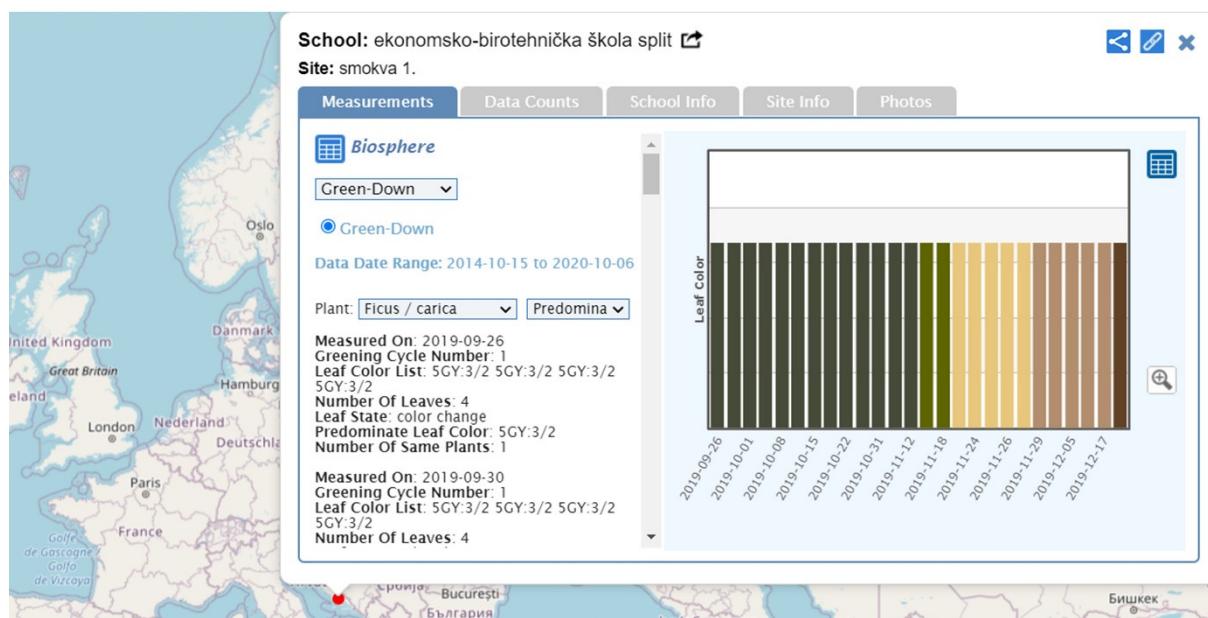
Utjecaj sunčeve svjetlosti na žućenje i opadanje listova

Tijekom promatranja, 11. mjesec je obilovalo oborinama koje su ubrzale opadanje starih nekrotičnih listova (slika 5).



Slika 5. Količina oborina u doba promatranja

Usporedili smo green-down listova smokve na neizravnoj sunčevoj svjetlosti s green-down smokve Ekonomsko-birotehničke škole u Splitu (slika 6) koja je udaljena 18 km od naše mjerne postaje. Njihova smokva raste u sjenovitom dijelu u dvorištu škole što mikroklimatski odgovara našem promatranju listova na neizravnoj svjetlosti. Primjetno je da su listovi ove smokve također duže bili fotosintetski aktivni i da je proces starenja bio sporiji kao i u našem promatranju.

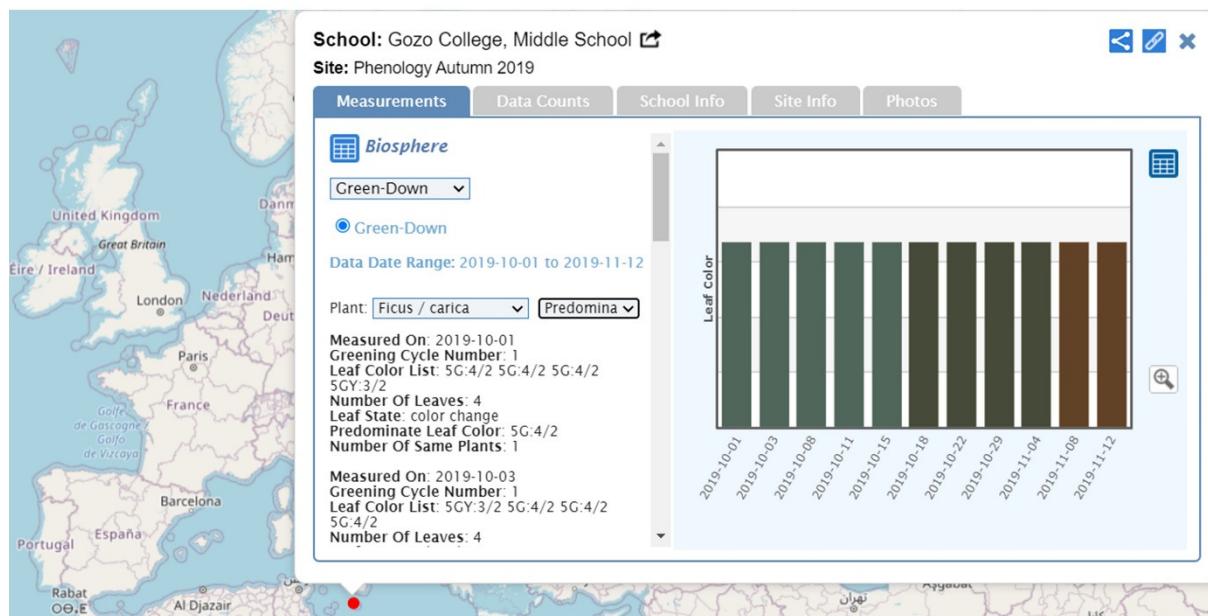


Slika 6. Green-down smokve Ekonomsko-birotehničke škole u Splitu (geografska širina 43,5122°, geografska dužina 16,4509°, nadmorska visina 52.0 m)

Green-down listova smokve na izravnoj sunčevoj svjetlosti smo usporedili s green-down smokve s Malte (slika 7). Malta je otočna država u Sredozemnom moru, ima mediteransku klimu, s blagim, kišovitim zimama i toplim, suhim ljetima. Tijekom njihovog promatranja u listopadu, solarne temperature kretale su se od 22 °C do 29 °C, a u studenom od 17 °C do 26 °C (podaci iz GLOBE baze),



što bi moglo odgovarati usporedbi s našim promatranjem na izravnoj sunčevoj svjetlosti. Listovi njihove smokve su imali kraći green-down, završio je 12.11.2019. godine, 18 dana kraće od green-down-a naše smokve. Pretpostavljamo da je zbog izloženosti jačoj sunčevoj svjetlosti, a time i višoj površinskoj temperaturi listova, ubrzana razgradnja klorofila, a time starenje i opadanje listova što se podudara s našim promatranjem listova smokve na izravnoj sunčevoj svjetlosti.



Slika 7. Green-down smokve Gozo College Middle School Malta (geografska širina 36,044418°, geografska dužina 14,245625°)

RASPRAVA

Kao i kod drugih listopadnih biljaka kod smokve, u jesen nastupa sinhrona senescencija, starenje i opadanja listova (Dubravec i Regula, 1995). Biljka se priprema za hladno godišnje doba. Smanjuje se koljanje vode kroz grane i stabljiku kako bi se zbog nižih temperatura izbjeglo pucanje provodnih žila.

Istraživanje je pokazalo da je starenje listova smokve na izravnoj sunčevoj svjetlosti započelo 4.10.2019., mjesec dana ranije u odnosu na starenje listova smokve na neizravnoj svjetlosti. Sunčeva svjetlost je djelovala na povišenje temperature tkiva i fotosinteze. Proces starenja obično izaziva smanjenje fotosinteze te oksidacijski stres (Dubravec i Regula, 1995).

Površinska temperatura listova na svjetlu, od dvadeset i četiri mjerena, osamnaest puta je izmjerena višom za 1-12 °C od površinske temperature listova u sjeni. Porast temperature ima za posljedicu povećan intenzitet disanja što dovodi do veće potrošnje organskih kiselina u procesima disanja. Odvijaju se oksidacijski procesi koji uključuju propadanje staničnih struktura i enzima, dezorganizaciju kloroplasta i smanjenje sadržaja klorofila (Dubravec i Regula, 1995). Smanjenjem fotosinteze dolazi do inaktivacije klorofila i zamjenjivanja kloroplasta drugim plastidima i njihovim pigmentima kao što su ksantofili i karotenoidi (žućenje listova) što je i bilo vidljivo tijekom našeg promatranja i u usporedbi s green-down-om Gozo College srednje škole na Malti (GLOBE, 2019a).

Istraživanje je pokazalo da su listovi na neizravnoj sunčevoj svjetlosti duže bili fotosintetski aktivni u prilog čemu ide njihova zelena boja, prisustvo klorofila sve do 7.11.2019. Njihova površinska



temperatura je bila niža zbog čega smatramo da je intenzitet disanja bio sporiji, a time i starenje što je potvrđio i green-down Ekonomsko-birotehničke škole u Splitu (GLOBE, 2019b).

Na procese starenja utječe i fitohormoni (Dubravec i Regula, 1995). Tijekom starenja u listovima se povećava stvaranje etilena koji pospješuje razgradnju klorofila i opadanje listova zbog stvaranja rastavnog tkiva na bazi lisne peteljke (Vego i sur, 2008). Zbog brže razgradnje klorofila u listovima na izravnoj svjetlosti, pretpostavljamo da je u njima bilo i veće lučenje etilena.

ZAKLJUČCI

Listopadno ili bjelogorično drveće mijenja boju lišća te ga potom svake jeseni gubi kako bi se zaštitili od oštećenja koja bi nastala zbog niskih temperatura tijekom zime. Zaključili smo da su izravna sunčeva svjetlost, a time i viša površinska temperatura listova ubrzali intenzitet disanja, razgradnju klorofila i žućenje listova. Listovi na neizravnoj sunčevoj svjetlosti zbog niže površinske temperature lisnog tkiva imali su sporije disanje, sporiju razgradnju klorofila, te sporiji green-down. Ovim je potvrđena naša hipoteza da će izravna sunčeva svjetlost, a time i viša površinska temperatura lista ubrzati sinhronu senescenciju. Ipak, utjecaj svjetlosti i temperature na disanje ovisi o biološkim osobinama biljke i drugim čimbenicima koje bi dodatno trebalo istražiti da bi se donio precizniji i točniji zaključak.

LITERATURA

- Dubravec K.D., Regula I. 1995. Fiziologija bilja, Školska knjiga, Zagreb
- GLOBE 1996. Priručnik o fenologiji za voditelje programa GLOBE, <http://globe.pomsk.hr/prirucnik.htm>
- GLOBE 2019. The GLOBE Program, A Worldwide Science and Education Program. <https://www.globe.gov>, pristupljeno 13.11.2019.
- Plantea 2012. Istraživanje prirode koja nas okružuje, Smokva. <https://www.plantea.com.hr/smokva>, pristupljeno 13.1.2020.
- Vego, D., Ostojić, I., Rotim, N. 2008. Smokva, Agroklub, <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/smokva-28>, pristupljeno 14.1.2020.
- GLOBE 2019.a Measurements: Malta. <https://www.globe.gov/web/malta>, pristupljeno 3.3.2020.
- GLOBE 2019.b Measurements: Ekonomsko-birotehnička škola u Splitu. <https://www.globe.gov/web/ekonomsko-birotehnicka-skola>, pristupljeno 3.3.2020.

PRILOG

Prilog 1. GLOBE karta biljnih boja



© 2005 Visual Color Systems • PO Box 93 • Mountaintop, NY 12763
www.visualcolorsystems.com • Phone: (845) 434-2646